FIBRINOPEPTID A RADIOIMMUNOASSAY NACH DER GELADSORPTIONSMETHODE

Klinische Ergebnisse

Peter Borlinghaus

1981

Aus der Hämostaseologischen Abteilung
der Medizinischen Klinik, Innenstadt,
der Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. E. Buchborn

FIBRINOPEPTID A RADIOIMMUNOASSAY NACH DER GELADSORPTIONSMETHODE

Klinische Ergebnisse

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Peter Borlinghaus

aus

Hof

1981

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. R. Marx
Dekan: Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 05.11.1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gewidmet
meinen geduldigen Eltern,
meiner lieben Großmutter

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545801_0067

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
A)		
1.	Einleitung	5
B)	Methodik	11
2.	Klinische Untersuchung, Patientengut	11
2.1.	Vorbemerkung	11
2.2.	Normalkollektiv	11
2.3.	Patienten mit hyperdynamen septischen Schock	12
2.4.	Weitere Patienten mit Verbrauchskoagulopathien	14
2.5.	Patienten mit Nierenkarzinom	14
2.6.	Patienten mit arteriellen bzw. venösen Gefäßverschlüssen	14
2.7.	Hämophiliepatienten	14
3.	Benötigte Materialien für den Fibrinopeptid-A-Radioimmunoassay nach der Geladsorptionsmethode	15
3.1.	Material für die Blutabnahme	15
3.2.	Material für die radioaktive Markierung	15
3.3.	Material für die Gelherstellung und für die Geladsorptionsmethode	16
3.4	Material für den Ansatz des Radioimmunoassays	17
4.	Vorgehen bei der Blutabnahme und der Weiterverarbeitung	18
4.1.	Blutabnahme bei Einfachwerten	18
4.2.	Blutabnahme für die Erstellung von Fibrinopeptid-A-Bildungskurven	18
4.2.1.	Prinzip der Fibrinopeptid-A-Bildungskurve	18
4.2.2.	Vorgehen	19
4.3.	Zentrifugieren, Einfrieren	20
5.	Vorbereitende Maßnahmen für den Fibrinopeptid-A-Radioimmunoassay nach der Geladsorptionsmethode	20
5.1.	Prinzip der Radioimmunoassays (RIA)	20

Seite

5.2.	FPA-Radioimmunoassay-Kit (Fa. IMCO) Verdünnung, Portionierung, Lagerung	21
5.3.	Die radioaktive Markierung	22
5.3.1.	Einführung	22
5.3.2.	Vorgehen bei der radioaktiven Markierung	22
5.4.	Geladsorptionsmethode mit Sephadex DEAE-A-25	25
5.4.1.	Fibrinspaltprodukte (Fibrion Degradation Products, FDP)	25
5.4.2.	Herstellung des Sephadex DEAE-A-25 Gels	26
6.	Gesamtablauf einer Testserie mit dem Radioimmunoassay für Fibrinopeptid-A nach der Geladsorptionsmethode	27
6.1.	Die Äthanolfällung	27
6.2.	Die Geladsorption	28
6.2.1.	Adsorption von FPA an das Gel	28
6.2.2.	Entfernung störender Plasmaproteine durch Waschen des Gels	28
6.2.3.	Fibrinopeptid-A Freisetzung vom Gel durch pH Senkung	29
6.3.	Standardkurve und Pipettierschema	29
6.4.	Die "kalte" Vorinkubation	31
6.5.	Die "heiße" Inkubation	32
6.6.	Die Auswertung	32
C)		
7.	Ergebnisse	34
7.1.	Qualitätskontrolle	34
7.1.1.	Wiederfinderaten	34
7.1.2.	Intra- und Intraserielle Standardabweichung	34
7.2.	Normalkollektiv	36
7.2.1.	Einzelwerte	36
7.2.2.	Fibrinopeptid-A-"Bildungskurven" von "Normalpersonen" (Methodik siehe 4.2.1.)	39

Seite

7.3.	Patienten mit hyperdynamen septischen Schock (Patientengut, Therapie siehe 2.3.)	40
7.4.	Drei weitere Patienten mit Verbrauchskoagulopathie	81
7.5.	Patienten mit Nierenkarzinom	85
7.5.1.	Einzelwerte	85
7.5.2.	Verlauf der FPA-Konzentration und anderer Gerinnungsparameter bei Embolisation inoperabler Nierenkarzinome (Absolutwerte)	86
7.6.	Patienten mit arteriellen und venösen Gefäßaverschlüssen	88
7.6.1.	Einzelwerte	88
7.6.2.	Verläufe	88
7.7.	Patienten mit Hämophilie	96
7.7.1	Fibrinopeptid-A-Bildungskurven bei Patienten mit Hämophilie (Hämophilie A und B, Hemmkörperhämophilie - Methodik siehe 4.2.). Ohne Substitution	96
7.7.2.	FPA-Bildungskurven von Patienten mit Hämophilie B vor und nach Substitution	98
7.7.3.	FPA-Bildungskurven von Patienten mit Hemmkörperhämophilie, vor und nach Substitution mit FREIBA (Fraktion FREIBA Human Imuno)	100
D)		
8.	Diskussion der Ergebnisse	104
8.1.	Normalkollektiv (siehe 7.2.)	104
8.1.1.	Einzelwerte	104
8.1.2.	Fibrinopeptid-A-"Bildungskurven" von "Normalpersonen"	105
8.2.	Patienten mit Verbrauchskoagulopathien	106
8.3.	Patienten mit Nierenkarzinom	108
8.4.	Patienten mit arteriellen und venösen Gefäßverschlüssen	112
8.5.	Patienten mit Hämophilie	115

Seite

E) 118
9. Zusammenfassung 118
10. Literatur 121

Lebenslauf 127

A)

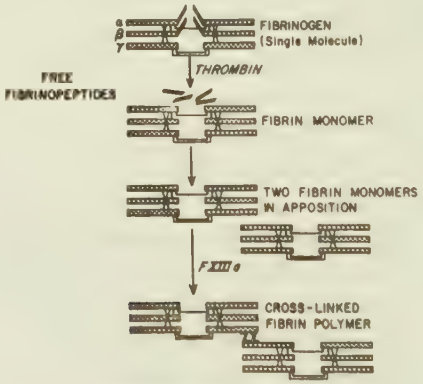
1. Einleitung

Fibrinopeptid A (Abb. 1) stellt nach Bilezikian et al. 1975) (5) das zeitlich erste Reaktionsprodukt der Thrombinwirkung im Plasma dar. Thrombin, eine Serinprotease (MG 34000) spaltet zwischen Arginyl-Glycyl-Bindungen im Fibrinogenmolekül. Es wirkt am fibrinstabilisierenden Faktor VIII, an den Thrombozyten sowie am Fibrinogenmolekül. Das Fibrinogenmolekül (MG 340 000 dt) besteht aus drei Paaren von Peptidketten, A (alpha), B (beta) und gamma (γ), die durch mehrere Disulfidbindungen miteinander verknüpft sind (Blombäck 1972) (7). Thrombin spaltet durch limitierte Proteolyse zwischen den genannten Aminosäuren zuerst von der A-alpha-Kette Fibrinopeptid A (MG 1537 dt) (Bettelheim 1956) (4) und danach Fibrinopeptid B (MG 1530 dt) von der B-beta-Kette ab (Blombäck und Vestermark 1958) (6). Dadurch werden pro Fibrinogenmolekül zwei Fibrinopeptid A-, zwei Fibrinopeptid B Moleküle und ein Fibrin-Monomer gebildet (Abb. 2). Die abgespalteten Fibrinmonomere polymerisieren zu löslichen Komplexen, die bezüglich Blutstillung noch unwirksam sind. In Gegenwart von Transglutaminase (aktivierter Faktor XIII) und Ca^{2+} -Ionen verknüpfen sich die aus Fibrinmonomeren durch End-zu-End-Aggregation entstandenen Polymersträngen, zu einem in Harnstoff oder Essigsäure unlöslichem Gerinnsel (Fibrin-Fibrillen). Man nimmt an, daß durch die thrombininduzierte Abspaltung der Fibrinopeptide A und B vom Fibrinogenmolekül aktive Zentren für den Angriff der Transglutaminase geschaffen werden (Lorand 1970) (29). Die Abspaltung von Fibrinopeptid A leitet die

Abbildung 1:
Aminosäurensequenz von Fibrinopeptid A (Blombäck et al. 1966, Dayhoff 1972) (10)

H_2N-Ala-Asp-Ser-Gly-Glu-Gly-Asp-Phe-Leu-Ala-Glu-Gly-Gly-
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13
-Gly-Val-Arg
14 15 16

Abbildung 2: (Nossel, 43)



Conversion of Fibrinogen to Fibrin.
In the presence of thrombin, the fibrinopeptides (darkened areas) split off the fibrinogen molecule. This action produces two molecules of fibrinopeptide A, two of fibrinopeptide B and one of fibrin monomer. Polymers form but are hemostatically ineffective until in the presence of calcium ions. In the presence of calcium ions, activated factor XIII converts the fibrin monomers into a hemostatically effective, cross-linked fibrin polymer.

End-zu-End-Assoziation und die folgende Fibrinopeptid-B-Abtrennung die Seit-zu-Seit-Aggregation der Monomere ein.

Die Pathophysiologie der klinisch bedeutsamen Hyperkoagulabilität basiert auf der intravasalen Entstehung und Wirkung von Thrombin (48). Bis jetzt gelingt es noch nicht, freies zirkulierendes Thrombin nachzuweisen. Man ist deshalb angewiesen, von Thrombinwirkungen auf den momentanen Gerinnungsstatus zurückzuschließen. Nach Müller-Berghaus (38) sind die in Tabelle I genannten Methoden für den Nachweis der Thrombinwirkung am Fibrinogenmolekül möglich.

Von therapeutischer Relevanz war der qualitative Nachweis von Fibrin-Monomeren durch den Äthanol-Gelationstest nach Godal (1966) (18). Fibrinomere, unmittelbare Vorstufen des Fibringerinnsels, sind in normalem Plasma nicht oder nur in sehr geringen Spuren vorhanden. Unter bestimmten pathologischen Bedingungen, vor allem bei der intravasalen Gerinnung, sind sie jedoch dann in größeren Mengen im Plasma zu finden (53). Klinisch einfach durchführbar liefert der Godaltest bei positivem Ausfall einen wertvollen Hinweis. Allerdings ist bei einem negativen Ergebnis eine disseminierte intravaskuläre Gerinnung jedoch nicht sicher auszuschließen. Den Nachteil der nur qualitativen Aussage versuchte Graeff (19) durch quantitative Bestimmung der löslichen Fibrin Monomerkomplexe mittels Gelfiltration zu beheben. Diese Methode trug viel zum Verständnis der Physiologie und Pathophysiologie der Hyperkoagulabilität bei. Sie ist aber wegen des großen Zeitaufwandes mehr für wissenschaftliche Fragestellungen als für klinische Akutsituationen geeignet (48).

Da das Fibrinopeptid A das zeitlich erste Reaktionsprodukt der Thrombinwirkung im Plasma darstellt, lag es nahe,

Tabelle I:
Möglichkeiten zum Nachweis der Thrombineinwirkung am Fibrinogenmolekül

1. Äthanol-Gelierungstest (Godal)
2. Protaminsulfattest (Lipinski)
3. Agglutination von Erythrozyten, die mit Fibrinmonomeren beladen sind (Mersky-Test)
4. Agarose-Gel-Filtration (LFMK, lösliche Fibrinmonomerkomplexe)
5. Affinitätschromatographie an insolubilisiertem Fibrinogen
6. Einbau von ^{14}C-Glycinäthylester in Fibrin
7. Polyacrylamid-Gel-Elektrophorese zum Nachweis von γ-γ-Dimeren bzw. Oligomeren des Fibrins
8. Bestimmung des N-terminalen Glycins
9. Radioimmunoassay für Fibrinopeptid B
10. Radioimmunoassay für Fibrinopeptid A

es für die klinische Diagnostik zu verwerten. Wir untersuchten mit einem von Nossel et al. (38) erstmals 1971 vorgestellten Radioimmunoassay, der von uns in grundlegenden Punkten modifiziert wurde (13), Fibrinopeptid A bei verschiedenen Kranken aus unserer Klinik.

In erheblichen Mengen kann Fibrinopeptid A bei manchen Krankheitsbildern intravaskulär freigesetzt werden. Nossel (1974) (41) nennt eine Halbwertszeit des Fibrinopeptids A von 3 - 5 min bei Normalpersonen. Obwohl Fibrinopeptid A eine relativ hohe Verschwinderate besitzt, kann mit dem beschriebenen Radioimmunoassay eine exakte quantitative Fibrinopeptid-A-Bestimmung erfolgen. Mit dem von uns modifizierten und jetzt in kürzerer Zeit durchführbaren Radioimmunoassay (Drost 1979) können somit Rückschlüsse auf die aktuelle Gerinnungssituation zur Zeit der Probeentnahme gemacht werden. Unser Ziel war es, den Fibrinopeptid-A-Spiegel bei verschiedenen Krankheitsbildern zu bestimmen, ihn mit den Werten eines Normalkollektives zu vergleichen und Relationen zu anderen Gerinnungsparametern, soweit möglich, herzustellen.

In Betracht gezogen werden muß allerdings, daß Fibrinopeptid-A nicht nur durch Thrombin vom Fibrinogenmolekül abgespalten wird, sondern auch neben niedermolekularen Fibrinopeptid-A-ähnlichen Molekülen durch hohe Plasmin- sowie Trypsinspiegel vom Fibrinogen abgetrennt werden kann (Mills 1972 (36); Bilezikian et al 1975 (5); Budzynski et al. 1975 (9)). In vivo dürften solche hohen Trypsin- bzw. Plasminaktivitäten nur in Ausnahmefällen vorkommen, wie z. B. beim Versuch eine thrombolytischen Streptokinasetherapie oder bei Urokinasegaben. Eine völlige Unterscheidung einer durch Thrombin- oder durch Plasmin induzierten Fibrinopeptid-A-Erhöhung im Test ist mit dem beschriebenen Radio-

immunoassay nicht möglich. Man kann deshalb nur über die Wirkung von Thrombin und thrombin-ähnlichen Enzymen zusammen eine Aussage machen (Nossel et al. 1974) (41). Budzynski (9) meint, daß außer unter den genannten Bedingungen der Fibrinopeptid-A-Radioimmunoassay hauptsächlich thrombininduzierte Fibrinopeptid-A-Werte feststellt.

B) Methodik

2. Klinische Untersuchung, Patientengut

2.1. Vorbemerkung

Ziel unserer Untersuchungen war es, den Fibrinopeptid-A-Radioimmunoassay nach der Geladsorptionsmethode auf seine klinische Verwertbarkeit, seine Aussagekraft und seine Genauigkeit bei klinischen Fragestellungen zu testen. Wir bestimmten deshalb Fibrinopeptid-A-Spiegel (Einzelwerte) und die Kinetik der Fibrinopeptid-A-Freisetzung in vitro (FPA-Bildungskurven) bei "Normalpersonen" und Patienten mit verschiedenen Krankheitsbildern. Bei allen Probanden hielten wir uns an die unter 4.1. und 4.2. beschriebenen Blutabnahme- und Verarbeitungsbedingungen.

2.2. Normalkollektiv

Um die FPA Werte von "Normalpersonen" mit denen von anderen Autoren zu vergleichen (Gerrits et al. 1974 (17); Nossel et al. 1974 (41); Cronlund et al. (11); Kockum 1976 (27); Hofmann, Straub 1977 (22)) bestimmten wir bei 96 sich gesund fühlenden Personen beiderlei Geschlechts die Fibrinopeptid A Plasmakonzentrationen.

Altersaufteilung:

unter 30 Jahre:	10 Personen
30 bis 39 Jahre:	17 Personen
40 bis 49 Jahre:	39 Personen
über 50 Jahre:	30 Personen
gesamt:	96 Personen

Bei 15 Normalpersonen wurden Fibrinopeptid-A-Bildungskurven bestimmt.

2.3. Patienten mit hyperdynamen septischen Schock

In einer prospektiven klinischen Studie von J. Witte (54), chirurgische Klinik der Universität München, wurden bei 18 Patienten Gerinnungs- und andere Plasmaproteinparameter untersucht (Witte 1979). Wir bestimmten dabei die Fibrinopeptid-A-Konzentrationen. Für die Diagnose "hyperdynamer septischer Schock" wurden bei den 13 männlichen und 5 weiblichen Patienten folgende haemodynamische und septische Definitionskriterien angewandt:

1. haemodynamische Kriterien für die hyperdyname Kreislaufsituation:
   - Herzindex größer 6 (1/min/m^2 Körperoberfläche)
   - arterieller Mitteldruck im Bereich der Norm oder in derem Grenzbereich (mm Hg)
   - peripherer Gesamtströmungswiderstand kleiner 600 (dyn x sec x cm^{-5})
2. septische Kriterien
   - septische Temperaturen höher als 38,5° C
   - zweimalige positive Blutkultur und/oder positiver Endotoxinnachweis im Serum (mit dem "Limulus-Bio-Assay")
   - Thrombozytenwerte kleiner als 130000 Zellen/mm^3

- Leukozytose über 150000 Zellen/mm^3 oder Leukopenie unter 5000 Zellen/mm^3
- klinischer "Gesamteindruck eines septischen Schocks"

Die Primärerkrankung und der jeweilige Sepsisherd sind unter Punkt 7., Ergebnisse, den einzelnen Patienten zugeordnet.

Therapeutische Maßnahmen:

- chirurgische Sanierung des Sepsisherdes (soweit möglich)
- weitere Therapie des septischen Schockes auf der Wachstation mit dem Ziel, das Herzzeitvolumen, die Mikrozirkulation, die Sauerstoffversorgung des Gewebes und die Gerinnungsstörung, die septische Verbrauchskoagulopathie, zu normalisieren.
- Humanalbumin (5- und 20 %ig) zur Volumensubstitution
- Antibiotika nach Antibiogramm
- Dopamin /min i.v. zur Verbesserung der Nierendurchblutung
- Heparin 200 - 400 E/h i.v. zur Behandlung der Blutgerinnungsstörung
- Aprotinin (Trasylol^R) 500.000 KIE initial als Kurzinfusion über 20 min, dann stündlich 100.000 KIE i.v. bei den Patienten Nr. 11 - 18, um die Fibrinolyse zu blockieren
- 6-Methylprednisolon 30 mg/kg KG i.v. als Bolus 6-stündlich über insgesamt 48 Stunden als begleitende Therapie zur Verbesserung der Lungenfunktion und zur Konsolidierung der Haemodynamik
- Maschinelle Dauerbeatmung
- Parenterale Ernährung mit hochprozentiger Glukose und Aminosäuren (3000 - 4500 Kilokalorien/die)

2.4. Weitere Patienten mit Verbrauchskoagulopathien

Drei weitere Patienten mit Verbrauchskoagulopathien wurden auf FPA-Einzelwerte und FPA-Verläufe untersucht. Die anderen Gerinnungsparameter und klinische Angaben zu den einzelnen Patienten sind unter 7. den Ergebnissen zugeordnet.

2.5. Patienten mit Nierenkarzinom

Bei 19 Patienten mit Nierenkarzinomen, die in der Urologischen Klinik der Universität München behandelt wurden, bestimmten wir die FPA-Konzentrationen. Bei 5 Patienten mit inoperablen Nierenkarzinomen wurden von F. J. Marx Tumorembolisationen durchgeführt. Die Indikation zu diesem palliativen Vorgehen waren rezidivierende bzw. massive Hämaturien. (F. J. Marx et al. 1977) (33) FPA Bestimmungen wurden vor, kurz nach und die Tage nach der Embolisation durchgeführt.

2.6. Patienten mit arteriellen bzw. venösen Gefäßverschlüssen

Fünf Patienten mit arteriellen bzw. venösen Gefäßverschlüssen wurden auf ihre FPA Konzentrationen untersucht. Nähere Angaben zu den Patienten unter 7.5.

2.7. Hämophiliepatienten

Bei sieben Patienten mit Hämophilie A erstellten wir FPA-Bildungskurven (Methodik siehe 4.2.)und vergli-

chen sie mit FPA-Bildungskurven von "Normalpersonen". Genauere Angaben unter 7.7. Zwei Patienten mit Hämophilie B und Patienten mit Hemmkörperhämophilie (FEIBA Therapie) wurden ebenfalls untersucht.

3. Benötigte Materialien für den Fibrinopeptid-A-Radioimmunoassay nach der Geladsorptionsmethode

3.1. Material für die Blutabnahme

Heparin-Natrium 50 000 NIH Einheiten +
Aprotinin (Trasylol^{R} Fa. Bayer) 50 000 KIH
ad 50 ml 0,9 % NaCl-Lösung

3.2. Material für die radioaktive Markierung

1. Tris-HCl-Puffer pH 7,5 (Puffer C)
   Tris 0,05 M
   NaCl 0,10 M
   Merthiolat (Äthylmerkurithiosalicylat) 0,2 g/l
   Dem Puffer wird vor Verwendung frisches Ovalbumin in einer Endkonzentration von 0,1 % zugegeben.
2. Natriumphosphatpuffer pH 7,5 (Puffer D)
   Na_2HPO_4 0,5 M
3. $K^{125}J$ 0,5 mCi in 10 µl Lösungsvolumen (Fa. Hoechst)
4. Desaminotyrosil-FPA aus dem Reagenziensatz "FPA-Radioimmunoassay-Kit" der Fa. IMCO
   2,5 g in 10 g NH_4HCO_3 /,1 M
   Lösung C

5. Chloramin-T
   25 mg in 8 ml Natriumphosphatpuffer pH 7,5 kurz vor Verwendung aufgelöst.

6. Natriumpyrosulfit ($Na_2S_2O_5$)
   25 mg werden in 8 ml Natriumphosphat Puffer pH 7,5 kurz vor Verwendung aufgelöst.

7. Tris-HCl-Puffer pH 7,5 + Ovalbumin 5 %
   Benötigt werden ca. 3 - 4 ml zum Desaktivieren ("Coaten") des Dextran-Trenngels in der Chromatographiesäule. Weiterhin zur Vorlage in die vorbereiteten Gefäße des Fraktionssammlers um Adsorptionen zu vermeiden. Zum Auswaschen des Markierungsgefäßes.

8. Dextran-Trenngel
   Sephadex G-10 10 g

3.3. Material für die Gelherstellung und für die Geladsorptionsmethode

1. Sephadex DEAE A-25 (Pharmacia-Fine-Chemicals)

2. Na-Acetat-Puffer pH 4,7 (Puffer A)
   0,1 M Essigsäure
   NaOH zum Einstellen
   Chlorhexidin 0,02 g/l keinen anderen Stabilisator verwenden, nicht mit HCl einstellen

3. Tris-HCl-Puffer pH 8,5 (Puffer B)
   Tris 0,067 M
   Der benötigten Puffermenge wird vor Gebrauch jeweils der frisches Ovalbumin bis zu einer Endkonzentration von 0,13 % zugegeben.

4. Tris-HCl-Puffer pH 7,5 (Puffer C, siehe 3.2.1.)

5. Natrium-Acetat-Lösung (Lösung A)
   Na-Acetat 1 M
6. HCl 0,1 M (Lösung B)
   NaCl 0,4 M
7. reines Äthanol

3.4. Material für den Ansatz des Radioimmunoassays

1. Puffer C siehe 3.2.1.
2. Puffer B siehe 3.3.3.
3. endverdünnte Lösungen aus dem Reagentiensatz FPA-Radioimmunoassay-Kit der Fa. IMCO
   - Antifibrinopeptid-A-Kaninchenserum (1. Antikörper) in einer Endverdünnung 1 : 1200 bzw. 1 : 1100, abhängig vom Alter des Tracers (Pipettiervolumen 100 µl)
   - Standard-Fibrinopeptid-A in einer Endverdünnung von 2 ng/ml
   - ^{125}J-markiertes Desaminotyrosil FPA (Tracer). Es wird so verdünnt, daß in 100 ul Pipettiervolumen ca 30 000 Cpm zu zählen sind. Nach 4 - 6 Wochen ist der Tracer nicht mehr zu verwenden.
4. Anti-Kaninchen-γ-Globulin Präzipitationsserum vom Esel (2. Antikörper) (Fa. Wellcome, Beckenhan, England). Die Endverdünnung muß für jede Charge neu ausgetestet werden, z. B.: 1 : 125
5. Unspezifisches Kaninchen-γ-Globulin (Fa. Serva, Heidelberg). Es wird dem endverdünnten 1. Antikörper (Anti-FPA Kaninchenserum) in einer Konzentration von 1,75 ug/100 ul zugesetzt.

4. Vorgehen bei der Blutabnahme und der Weiterverarbeitung

4.1. Blutabnahme bei Einfachwerten

Pro Bestimmung im Fibrinopeptid A-Radioimmunoassay werden 1 ml Heparin-Trasylol-Plasma benötigt. Es hat sich als sinnvoll erwiesen 5 ml Heparin-Trasylol-Blut nach folgendem Vorgehen mit einer Plastikeinmalspritze abzunehmen:

Um proteolytische Einwirkungen von Thrombin und Plasmin während und nach der Blutabnahme weitestgehend zu hemmen, werden in eine 5 ml Plastikspritze 0,5 ml einer Lösung vom 1000 KIE/ml Aprotinin (Trasylol^{R}) und 1000 NIH/ml Heparin-Natrium in 0,9 % NaCl-Lösung vorgelegt. Die Vene wird dann direkt mit einer großlumigen Kanüle punktiert (nach möglichst nur kurzer Stauung und ohne lange Manipulationen) und das Blut blasenfrei bis zur 5 ml Marke aufgezogen und gemischt. Sollten sich eventuelle Abnahmeschwierigkeiten ergeben, so ist dies für die spätere Interpretation des Meßergebnisses unbedingt zu vermerken. Ähnlich wie bei der Bestimmung anderer Gerinnungsparameter darf aus bereits länger liegenden Kanülen und Kathedern nicht abgenommen werden.

4.2. Blutabnahme für die Erstellung von Fibrinopeptid-A-Bildungskurven

4.2.1. Prinzip der Fibrinopeptid-A-Bildungskurve

Bei der Erstellung einer FPA-Bildungskurve läßt man

in vitro den Gerinnungsprozeß anlaufen. Die Einwirkung der Proteasen auf das Fibrinogenmolekül und die damit verbundene FPA-Freisetzung wird nach definierten Zeitabständen (z. B. nach 2-6-8-10-20-30-40 min) mit der beschriebenen Heparin-Trasylol-Natriumchlorid-Lösung gestoppt. Je nach Gerinnungsdauer und vorliegendem Gerinnungspotential lassen sich verschieden stark ansteigende FPA-Bildungskurven feststellen. Im Vergleich zu FPA Bildungskurven von Normalpersonen lassen sich so Hypokoagulabilitäten quantitativ erfassen.

4.2.2. Vorgehen

Wir haben pro Einzelbestiimung in einer FPA-Bildungskurve 3 ml Blut verwendet. Nach den schon genannten Kriterien wird die gewünschte Blutmenge ohne jeglichen Zusatz mit einer Einmalspritze abgenommen. Vor der Blutabnahme wird ein Reagenzglasständer vorbereitet, in dem die gewünschte Anzahl von Reagenzgläsern mit je 300 µl der genannten Heparin-Trasylol-Lösung stehen. Nach der Abnahme wird die Spritze mit dem Nativblut auf einem Rollmischer ständig in Bewegung gehalten, um einen möglichst optimalen Gerinnungsablauf zu gewährleisten. Zu den festgesetzten Zeitpunkten (z. B. nach 2-4-8-10 min.) werden jeweils 3 ml Blut in ein vorbereitetes Reagenzglas gespritzt und mit den 300 µl Heparin-Trasylol-NaCl durchmischt. Zwischen den so zu bestimmenden Einzelwerten wird die Spritze jeweils wieder auf dem Rollenmischer kontinuierlich bewegt.

4.3. Zentrifugieren, Einfrieren

Die Blutproben werden möglichst früh nach der Abnahme, spätestens nach einer Stunde, 20 min lang bei 4° C und mit 2000 g zentrifugiert. Mindestens 1 ml des Plasmaüberstandes wird in ein Plastikgefäß pipettiert und sofern eine sofortige Weiterverarbeitung nicht geplant ist, wird es bei -40° C tiefgefroren.

Nach Kockum (1976) (27) ist tiefgefrorenes Plasma mindestens ein halbes Jahr lagerbar. Wir haben bei Mehrfachbestimmungen eines tiefgefrorenen Plasmapools keinen signifikanten FPA-Konzentrationsabfall festgestellt (Drost) (13).

5. Vorbereitende Maßnahmen für den Fibrinopeptid-A-Radioimmunoassay nach der Geladsorptionsmethode

5.1. Prinzip der Radioimmunoassays (RIA)

Chemisch gesehen läßt sich der RIA durch folgende Reaktionsgleichungen, die dem Massenwirkungsgesetz folgen, darstellen. (14)

1. $Ak + Ag \rightleftharpoons Ak \cdot Ag$
2. $Ak + Ag^{*} \rightleftharpoons Ak \cdot Ag^{*}$

$$Ak_{const} + Ag^{*}_{const} + Ag_{var} \rightleftharpoons Ak \cdot Ag^{*} + Ak \cdot Ag$$

Eine variable Menge des zu bestimmenden Antigens (Ag_{var}, in unserem Fall Fiorinopeptid A) konkurriert

mit einer konstanten Menge des gleichen, aber radioaktiv markierten Antigens (Ag^*_{const}, Tracer, bei uns mit ^{125}J markiertes Desaminotyrosil FPA) um die Bindung mit einer konstanten Menge eines spezifischen Antikörpers (Ak_{const}). Nachdem sich ein Reaktionsgleichgewicht eingestellt hat, wird gebundenes Antigen (Antigen-Antikörper-Komplex) von ungebundenen Antigen getrennt (bei uns mit der Doppel-Antikörpertechnik). (48) Die Radioaktivität des Antigen-Antikörper-Komplexes wird gemessen und mittels einer Eichkurve wird die Menge des Testantigens bestimmt.

5.2. FPA-Radioimmunoassay-Kit (Fa. IMCO)
Verdünnung, Portionierung, Lagerung

1. Anti-Fibrinopeptid-A (1. Antikörper) Kaninchenserum. Die 0,5 ml der Stechampulle werden mit Puffer C + Ovalbumin 0,1 % 1 : 100 vorverdünnt und jeweils 2 ml in Plastikreagenzgläser abgefüllt. Bei -60° C lagern.

2. Standard-Human-Fibrionopeptid-A
(eine Stechampulle mit 40 µg Lyophilisat)
Das Lyophilisat wird mit Puffer C + Ovalbumin 0,1 % im Verhältnis 1 : 40 vorverdünnt. Der größte Teil dieser Verdünnungsstufe 1 (1 µg/ml) wird zu je 1 ml in Eppendorfreaktionsgefäße abgefüllt und bei -60° C gelagert. Bei Bedarf wird der übriggebliebene Rest der Verdünnungsstufe I gleich zur Verdünnungsstufe II (20 ng/ml) weiterverdünnt. (1 ml ad 50 ml mit Puffer C - Ovalbumin 0,1 %). Lagerung bei -60° C in Eppendorfgefäßen (jeweils 1 ml).

3. Desamino-Tyrosil-Fibrinopeptid-A
   200 µg des Lyophilisats (eine Stechampulle) werden in 800 µg Lösung C gelöst. In verschlossenen Eppendorfgefäßen werden jeweils 10 µl ≙ 2,5 µg bei -60° C tiefgefroren.
4. Unspezifisches Kaninchen-γ-Globulin
   (nicht im Reagentiensatz der Fa. IMCO enthalten)
   Mit Puffer C + Ovalbumin 0,1 % zu einer Endkonzentration von 70 µg/100 µl verdünnen. Portionen zu 0,6 ml bei -60° lagern.

5.3. Die radioaktive Markierung

5.3.1. Einführung

Da FPA selbst keine jodinierbaren Aminosäuren besitzt, wird es nach dem von Goodfriend et al. (20) beschriebenen Verfahren (1969) mit Desaminotyrosin gekoppelt. Ohne Verlust der antigenen Eigenschaften kann hier am aromatischen Ring in m-Position jodiniert werden. Hunter et al. beschrieben 1962 (23) für Wachstumshormon einen Markierungsvorgang nach der Chloramin-T-Methode, die Nossel et al. 1971 auf Desaminotyrosil-FPA übertrugen (40).

Mit 0,5 mCi ^{125}J koppelten wir 2,5 µg Desaminotyrosil-FPA. Wir erhielten so eine Aktivität von 100 bis 130 µCi/µg ^{125}J-Desaminotyrosil-FPA (Schramm, Schmid 1977) (48)

5.3.2. Vorgehen bei der radioaktiven Markierung

1. Herstellung der Chromatographiesäule:
   - 10 g Sephadex G-10 in ca 50 ml Puffer C für ca 10 Minuten suspendieren

- ein 20 bis 30 cm langes (2 bis 3 cm ⌀) Glasrohr mit einem Bunsenbrenner konisch zuformen. Dann wird die Spitze mit Glaswolle ausgestopft und am Ende der Glasspitze ein dünner Silikonschlauch angebracht. Das so vorbereitete Glasrohr wird in einem Säulenhalter senkrecht fixiert. Der Silikonschlauch wird abgeklemmt
- Gel in Säule eingießen, sedimentieren lassen und überstehenden Puffer ablassen
- ca 1 ml Puffer C + Ovalbumin 5 % auf das Gel pipetieren. Das Gel wird so desaktiviert ("Coaten")
- ca 2 ml Puffer C + Ovalbumin 0,1 % werden nach dem Einsickern des Puffers dazugegeben. Danach Silikonschlauch wieder abklemmen.

2. Radioaktives Arbeiten im Markierungsraum
   - 10 µl Puffer D werden zu dem in 10 µl Lösung C gelösten 2,5 µg Desaminotyrosil FPA gegeben
   - anzentrifugieren, so daß sich der gesamte Inhalt am Boden des Eppendorfreaktionsgefäßes sammelt
   - 0,5 mCi $K^{125}J$, gelöst in 10 µl Natriumphosphatpuffer pH 7,5 dazupipettieren
   - starten der Jodinierungsreaktion (im Markierungsraum) durch 10 µl Chloramin-T-Lösung, welche erst kurz vorher hergestellt wird
   - nach 10 Sekunden wird die Reaktion mit 20 µl Natriumpyrosulfitlösung gestoppt
   - 50 µl Puffer C + Ovalbumin 5 % dazugeben. Mischen und 200 µl Puffer C + Ovalbumin 0,1 % zur Volumenvergrößerung dazugeben.
   - mit Pasteur-Pipette (mit Gummiballon) aufsaugen und direkt auf die Chromatographiesäule geben (auf der Säule soll kein überstehender Puffer mehr sein)
   - Markierungsgefäß mindestens zweimal mit je 200 µl

Puffer C + Ovalbumin 0,1 % auswaschen und Waschpuffer gleichfalls auf Säule geben
- Silikonschlauch öffnen und Fraktionen zu ca 0,8 bis 1 ml sammeln
- die Säule wird mit Puffer C + Ovalbumin 0,1 % nachgewaschen, so daß ca 50 Fraktionen gesammelt werden können
- in die ersten zwanzig Fraktionssammelgefäße werden je 20 µl Puffer C + Ovalbumin 5 % gegeben, um ein mögliches Anhaften des markierten FPA's an der Gefäßwand zu vermeiden
- mit einem Gasionisationszähler wird die Radioaktivität der einzelnen Fraktionen gemessen und die einzelnen Aktivitäten auf Millimeterpapier graphisch festgehalten
- Das Dextrangel der Chromatographiesäule trennt nach Molekülgröße. Demzufolge erscheinen nach den ersten noch kaum radioaktiven Fraktionen eine Anzahl radioaktiver Fraktionen, der sogenannte Proteinpeak Von diesem werden die 2 bis 3 Fraktionen für die Tracerendverdünnung benützt, die im Gasionisationszähler die höchste Count-zahl erreichen. Erst später folgt ein zweiter Peak mit dem nicht zur Reaktion gekommenen restlichen ^{125}J.

3. Die Tracerendverdünnung
Um zu starke Verluste an immunologisch aktiven Fibrinopeptid-A zu verhindern (nach Erhard und Scriba 1974 (15) durch Radiolyse), wird der Tracer in der fertigen Endverdünnung (etwa 30 000 cpm/100 µl) gelagert.
- 10 µl des konzentrierten Tracers in 1 ml Puffer C + Ovalbumin 0,1 % verdünnen
- davon 10 µl im Szintillationszähler messen
- die gemessene Aktivität mit Faktor 1000 multiplizieren. Dies ergibt die Aktivität von 100 l des konzentrierten Tracers.

- der konzentrierte Tracer wird jetzt so verdünnt, daß pro 100 µl Endverdünnung etwa 30 000 cpm gemessen werden. In Einzelportionen zu 100 µl wird der Tracer tiefgefroren gelagert
- ein frischhergestellter Tracer ist tiefgefroren etwa 4 bis 6 Wochen verwendbar

5.4. Geladsorptionsmethode mit Sephadex DEAE-A-25

5.4.1. Fibrinspaltprodukte (Fibrion Degradation Products, FDP)

Budzynski (1975) (9) stellt fest, daß der gegen FPA spezifische Kaninchen-Antikörper auch mit den von Fibrin oder Fibrionogen abgespalteten Fibrinspaltprodukten kreuzreagieren kann. Der 1. Antikörper reagiert somit nicht nur mit FPA, sondern auch mit Fibrinogen, dem E-Fragment des Fibrinogens und den beiden größeren Fragmenten X und Y sowie dem NH_2-terminalem Disulfidknoten. Zu bedenken ist auch, daß laut Budzynski (1976) (9) FPA oder ein FPA enthaltendes Peptid durch Plasmin vom Fragment E des Fibrinogens freigesetzt werden kann. Die störender Anteile der FDP (Normalwert FDP 0 - 10 µg/ml) und des Fibrinogens müssen deshalb vor der FPA Bestimmung aus dem Plasma entfernt werden.

Vier Verfahren zur Abtrennung von Fibrinogen und FDP sind getestet worden:

- Hitzefibrinierung: Hierbei wird Fibrinogen zum großen Teil entfernt, während dies bei den Spaltprodukten nur unvollständig geschieht (Drost 1980) (13)

- Äthanolfällung mit Kälteinkubation: Hierbei werden alle größeren Moleküle präzipitiert. FPA mit einem geringen Molekulargewicht wird nur geringfügig beeinflußt (Drost 1980) (13)
- Dialyse: Zusammen mit der Äthanolfällung wird mit diesem Verfahren eine sichere Trennung der kreuzreagierenden Spaltprodukte erreicht (Nossel et al. 1974) (41)
- Ionenaustausch - Trennverfahren (Geladsorptionsmethode): Unsere eigenen Untersuchungen (Drost) (13) ergaben, daß die Kombination der Äthanolfällung mit der folgenden Adsorption von FPA an einem Anionenaustauscher und der folgenden FPA-Wiederfreisetzung vom Gel, eine technisch gut praktizierbare und mit befriedigenden Ergebnissen behaftete Methode ist. FPA besitzt 5 Carboxyl- und 2 Aminogruppen. Laut M. Schmidt (persönliche Mitteilung) liegt somit der isoelektrische Punkt bei einem pH von 3,5. Die günstigsten Adsorptionsbedingungen und das beste Trennverfahren fanden wir mit dem Sephadex Gel DEAE A-25 bei einem pH von 4,7 in einem Natrium-Acetat-Puffer. Da bei einem Anionenaustauscher Sephadex DEAE A-25 ein Chloridion als Gegenion fungiert, muß das Gel für eine Adsorption in einem Acetat-Puffer vorher in Acetat äquilibriert werden

5.4.2. Herstellung des Sephadex DEAE A-25 Gels

- 5 g Sephadex DEAE A-25 in einem 300 ml Weithalskolben abwiegen
- 200 ml Na-Acetat 1 M (Lösung A) zugeben, mischen und Kolben mit einer Plastikfolie abdecken

- mindestens 8 Stunden stehen lassen, dann
- Überstand abgießen und
- 200 ml Aqua dest. zugeben
- 1 Stunde mit Magnetrührer mischen, dann
- 20 Minuten sedimentieren lassen und
- Überstand entfernen, erneut
- 200 ml Lösung A zugeben
- stündlich werden nach dem obigen Schema (Mischen, sedimentieren lassen, klaren Überstand abgießen) folgende Substanzen zugegeben:
- 200 ml Aqua dest.
- 200 ml Aqua dest.
- 200 ml Natrium-Acetat-Puffer pH 4,7 (Puffer A)
- 200 ml Puffer A
- unter permanentem Mischen werden jetzt jeweils 1,5 ml in vorbereitete Plastikreagenzröhrchen abgefüllt. In jedem Gefäß befinden sich somit ca. 30 mg Sephadex DEAE A-25 Gel (Trockengewicht)
- die Röhrchen werden verschlossen und bei 4°C gelagert. Das Gel ist so ca. eine Woche verwendbar.

6. Gesamtablauf einer Testserie mit dem Radioimmunoassay für Fibrinopeptid-A nach der Geladsorptionsmethode

6.1. Die Äthanolfällung

- tiefgefrorene Plasmaproben im 37°C Wasserbad auftauen bzw. frische Plasmaproben verwenden
- zu jeweils 1 ml Heparin-Trasylol-Plasma werden 1 ml

Äthanol 99 % im Schuß zugegeben. Es bildet sich sofort ein weiß-gelblicher Niederschlag
- für 30 Minuten wird im Kühlschrank bei 4°C eine Kälteinkubation durchgeführt. Danach werden die Proben
- 10 Minuten bei 4°C mit 2000 G zentrifugiert
- der Überstand wird in ein neues Plastikröhrchen abgegossen und nochmals
- 30 Minuten bei 4°C stehengelassen. Es bildet sich ein Nachpräzipitat, das durch
- 10minütiges Zentrifugieren bei 4°C und 2000 G vom klaren Überstand abgetrennt wird.

6.2. Die Geladsorption

6.2.1. Adsoption von FPA an das Gel

- 7,5 ml Puffer A werden zu den vorbereiteten Plastikröhrchen gegeben, die bereits ca 30 mg Sephadex DEAE A-25 in 1,5 ml Puffer A enthalten. Dann werden
- 1 ml klarer Überstand des jeweiligen äthanolgefällten Plasmas dazu pipettiert. Reagenzglas verschließen
- 30 Minuten auf Rollenmischer oder Schwenkapparat mischen.

6.2.2. Entfernung störender Plasmaproteine durch Waschen des Gels

- Gel 5 Minuten bei 1000 Upm zentrifugieren
- Überstand abgießen und mit 10 ml Puffer A resuspendieren
- Gel nochmals 5 Minuten bei 1000 Upm zentrifugieren
- Überstand vollständig abgießen.

6.2.3. Fibrinopeptid-A Freisetzung vom Gel durch pH Senkung

- 1 ml Lösung B zum Gel dazupipettieren. Gefäß verschließen und
- 10 Minuten auf Rollenmischer durchmischen, dann
- kurz bis auf 2000 G anzentrifugieren
- 1 ml des Überstandes in vorbereitetes Plastikreagenzgefäß geben, das bereits 3 ml (bzw. 2,25 ml) Puffer B enthält. Der pH-Wert wird so auf ca. 7,5 angehoben. Beim Herauspipettieren des 1 ml Überstandes ist darauf zu achten, daß ken Gel mit aufgesaugt wird. Obwohl vorher eine Säurebehandlung vorangegangen ist, kann dann erneut FPA teilweise adsorbiert werden
- gründlich mischen. Dies ergibt den 1 : 1 Wert
- in je 3 vorbereitete, beschriftete Eppendorf-Mikroreaktionsgefäße werden jeweils 500 µl des 1 : 1 Wertes pipettiert. (Dreifachwerte, um Fehlwerte zu vermeiden). Sind höhere FPA Werte zu erwarten, werden zusätzlich 1 : 4 und 1 : 16 Verdünnungen mit angesetzt.

6.3. Standardkurve und Pipettierschema

Die für die Standardkurve benötigte Puffermenge stellten wir in einem der letzten Schritte der Geladsorption entsprechenden Verfahren her. Somit sind weitestgehend identische Inkubationsbedingungen zwischen Standardkurve und Plasmaproben im Assay zu erreichen. Ionenstärke und pH-Wert sind somit den 1 : 1 Werten der Plasmaproben im Assay angeglichen. (Puffer B korrigiert).

- von 8 Sephadex DEAE A-25 enthaltenden Reagenzge-

fäßen (siehe 5.4.2.) werden die Überstände abgegossen
- und jeweils 1 ml Lösung B dazupipettiert. Nach dem
- Mischen wird
- bis 2000 G anzentrifugiert und
- von jedem Gefäß 750 µl des klaren Überstandes in ein Gefäß gegeben, das bereits 18 ml Puffer B enthält.
- Mischen.

Die Standardkurve und die Probenweiterverarbeitungen werden nach folgendem Pipettierschema angesetzt. Von der Verdünnungsstufe II des Standard FPA's (siehe 5.2.2.) wird eine natürliche Verdünnungsreihe hergestellt.

Gefäß-nummer	Standard-FPA in Standard-kurve	vorgelegte Menge Puffer B korrigiert	Lösungsvolumen für Standard FPA	Antihuman FPA AK I	^{125}J-Des.-Tyr.-FPA Tracer	Anti-Kan.-γ-AK II
	ng	µl	µl	µl	µl	µl
1- 6	B_o	500	---	100	100	100
7- 9	0,03	400	100	100	100	100
10-12	0,06	400	100	100	100	100
13-15	0,12	400	100	100	100	100
16-18	0,25	400	100	100	100	100
19-21	0,50	400	100	100	100	100
22-24	1,00	400	100	100	100	100
25-27	2,00	400	100	100	100	100
28-30	4,00	300	200	100	100	100
31-33	8,00	100	400	100	100	100
34-38	N	600	---	1,75 Kan.-γ-Glob.	100	100
39-41	Probe 1	---	500	100	100	100
42-44	Probe 2	---	500	100	100	100
45-47	Probe 3	---	500	100	100	100

B_o = Maximale Bindung
N^o = unspezifische Bindung

10-12 h kalte Vorinkubation
2 h heiße Inkubation
1 h Inkubation

6.4. Die "kalte" Vorinkubation

- tiefgefrorenes 1 : 100 vorverdünntes Antihuman-FPA (siehe 5.2.1.) auftauen und
- je nach verwendeter Antikörpermenge (abhängig von der Anzahl der Proben im RIA) soviel unspezifisches Kaninchen- -Globulin zugeben, daß in 100 µl endverdünnter Lösung 1,75 µg enthalten sind
- 1. Antikörper mit Puffer C + Ovalbumin 0,1 % auf 1 : 1100 verdünnen
- je 100 µl dieser Lösung in den Testansatz pipettieren
- Testgefäße mit selbstklebender Plastikfolie verschließen
- 10 - 12 Stunden stehenlassen bei Raumtemperatur

Anmerkung: Die optimale Endverdünnung des spezifischen ersten Antikörpers ist abhängig von der verwendeten Charge. Nach Nossel (1971) soll die Endverdünnung so gewählt werden, daß 30 - 50 % der Traceraktivität gebunden werden. Dies entspricht dann der maximalen Bindung B_o. Auch die anderen, im Testansatz sich befindenden Parameter müssen auf die optimalen Testverdünnungen untersucht werden. Folgende Verdünnungsstufen haben sich bei uns als optimal herausgestellt (Drost):

- Anti-Human-FPA (Charge 7 - A - M): 1 : 1100
- unspezifisches Kaninchen-γ-Globulin: 1,75 g/Testansatz
- Anti-Kaninchen-γ-Globulin (II. Antikörper): 1 : 25

Eine "kalte" Vorinkubation ohne gleichzeitige Zugabe von Tracer kann die Empfindlichkeit des Assays erheblich steigern. Unsere Untersuchungen zeigten, daß bei einer Verkürzung der Vorinkubationszeit von 10 - 12

Stunden auf 2 Stunden die untere Nachweisgrenze des Assays von 0,02 ng auf 0,05 ng anstieg.
Eine Testverkürzung ist somit ohne Schwierigkeiten möglich, da dieser Wert noch im Normalbereich liegt.

6.5. Die "heiße" Inkubation

- 100 µl Tracer mit ca. 30 000 cpm/100 µl werden nach Beendigung der Vorinkubation jedem Testansatz dazupipettiert
- 2 Stunden bei Raumtemperatur inkubieren lassen, dann
- je Testansatz 100 µl Anti-Kaninchen-γ-Globulin vom Esel (endverdünnt auf 1 : 25) zugeben und
- 1 Stunde bei Raumtemperatur stehen lassen, dann
- 20 Minuten bei 4°C mit 2000 G zentrifugieren
- der nichtpräzipitierte, klare und radioaktive Überstand wird vorsichtig bis auf einen Rest von ca. 30 µl abgesaugt (mit einer Wasserstrahlpumpe) und in einem deutlich gekennzeichnetem Gefäß (radioaktiv!) gesammelt
- die einzelnen Ansätze werden sodann 1 Minute/Probe in einem Szintillationszähler gemessen. Die Ergebnisse werden ausgedruckt und gleichzeitig per Lochstreifen für die folgende Computerauswertung festgehalten.

6.6. Die Auswertung

Eine zwanghafte Linearisierung der Eichkurve (Standardkurve) wird durch ein Computerprogramm vermieden. Nach Reinsch wird eine Glättung durch kubische Spline-Funktionen erreicht, die nach Marschner et al (1974)

(30) für den Radioimmunoassay angewendet wird. Der Glättungsgrad, ein Maß für die Möglichkeit, stärker abweichende Meßpunkte ohne Störung der "glattesten" Kurve zu verwerten, wird durch den Glättungsfaktor vorgegeben. Wir benutzten einen Glättungsfaktor von 0,2.

Dem Computer wird weiterhin der Verdünnungsfaktor eingegeben, der bei uns - durch das Geladsorptions-verfahren bedingt - 21fach ist. Der Verdünnungsfaktor wurde durch inter- und intraserielle Vergleiche mit einem Standardwert bestätigt.

Der Rechner druckt die FPA Konzentrationen aus, die sich in 0,5 ml Plasma befinden. Auf ein ml Plasma bezogen, ergibt sich so ein Gesamtverdünnungsfaktor von 42fach. Er ist dafür verantwortlich, daß wir im Vergleich zu Nossel (1974) (41), Gerrits (1974 - 0,5 ng/ml) (17) und Kockum (1976) (27) eine relativ hohe untere Nachweisgrenze von ca. 0,8 ng/ml hatten.

C)

7. Ergebnisse

7.1. Qualitätskontrolle

7.1.1. Wiederfinderaten

Zum Plasma klinisch gesunder "Normalpersonen" setzten wir 5 ng, 10 ng und 110 ng Standard-Fibrinopeptid A zu. Zur Bestimmung der Validität und der Reproduzierbarkeit untersuchten wir die Wiederfinderaten.

zugegebene Menge an Standard-FPA ng/ml	wiedergefundene FPA Konzentration ng/ml (Mittelwerte)
5	5,59
10	13,20
110	113,0

Die "Wiederfindewerte" sind wahrscheinlich deshalb geringfügig erhöht, da bereits das Plasma, dem das Standard-FPA zugesetzt wurde, eine gewisse FPA-Konzentration hatte.

7.1.2. Intra- und Interserielle Standardabweichung

In jeder Serie wurden mehrfach Kontrollwerte (meist je Serie dreimal der gleiche Kontrollwert) mituntersucht:

1. - Zwei verschiedene Poolplasmen von gesunden "Normalpersonen", von denen soviel Standard-

FPA zugesetzt war, daß die FPA-Gesamtkonzentration in einem Testansatz im optimalen Meßbereich, also im steilen Teil der Standardkurve, lag.

2. - 10 ng/ml Standard¬FPA in Puffer C + Ovalbumin 0,1 % 1 ml von diesem Kontrollwert wurde der Geladsorption zugesetzt. Dies ergab den K_G-Wert
   - Pool I:
     Mittelwert = 6,5 ng/0,5 ml, n = 20
     interserielle Standardabweichung, 8 Serien, n = 20:
     2 = $\pm$ 0,84 ng, VK = 13,04 %
     intraserielle Standardabeichung:
     in den einzelnen Serien lag VK zwischen 4,7 % und 15,2 %
   - Pool II:
     Mittelwert = 6,69 ng/0,5 ml, n = 41
     interserielle Standardabweichung, 16 Serien, n = 41:
     s = $\pm$ 1,03 ng, VK = 15,5 %
     intraserielle Standardabweichung, Serie 17, n = 5
     s = $\pm$ 0,79 ng, VK = 10,1 %
   - Interserielle Mehrfachbestimmungen bei 36 Serien ergaben bei 89 bestimmten Poolplasmen einen Mittelwert von 6,8 ng und einen Variationskoeffizienten von $\pm$ 13,7 %. Bei den letzten 10 Serien, die von immer der gleichen Person durchgeführt wurden, konnte der VK auf $\pm$ 8,6 % gesenkt werden (Schramm et al. 1980) (49)
   - K_G-Wert:
     Mittelwert = 9,67 ng/ml bei 14 Serien, Erwartungswert = 10 ng/ml.
     Standardabweichung s = $\pm$ 1,26 ng, VK = 13,1 %.

7.2. Normalkollektiv

7.2.1. Einzelwerte:

- Personen unter 30 Jahre:
  n = 10
  Mittelwert: 1,14 ng/ml
  Standardabweichung: s = ± 0,7 ng/ml
  Spannweite: 0,4 ng/ml bis 2,2 ng/ml
- Personen zwischen 30 und 39 Jahre:
  n = 17
  Mittelwert: 1,4 ng/ml
  Standardabweichung: s = ± 0,64 ng/ml
  Spannweite: 0,4 ng/ml bis 2,4 ng/ml
- Personen zwischen 40 und 49 Jahren:
  n = 39
  Mittelwert: 1,1 ng/ml
  Standardabweichung: s = ± 0,6 ng/ml
  Spannweite: 0,4 ng/ml bis 2,2 ng/ml
- Personen über 50 Jahre:
  n = 30
  Mittelwert: 1,6 ng/ml
  Standardabweichung: s = ± 1,3 ng/ml
  Spannweite: 0,4 ng/ml bis 4,8 ng/ml
- alle untersuchten Personen:
  n = 96
  Mittelwert: 1,3 ng/ml
  Standardabweichung: s = ± 0,81 ng/ml
  Spannweite: 0,4 ng/ml bis 4,8 ng/ml

Wir legten unseren Normalbereich auf unter 3 ng/ml Plasma fest (Schramm et al 1980) (49)

Einzelwerte des Normalkollektivs:

- Personen unter 30 Jahre

Name	FPA im Plasma, ng/ml
W.B.	1,4
Sr. A.	1,4
B.	0,4
Dr. H.	0,4
A.	1,8
Dr. S.	2,0
K. T.	1,0
Dr. M.	0,4
S. R.	2,2
Dr. H.	0,4

- Personen zwischen 30 und 39 Jahren

C. J.	1,8
H. R.	0,4
H. W.	0,4
H. P.	0,8
A. S.	1,2
J. E.	2,2
M.	0,8
L.	1,8
H. E.	1,6
H. K.	1,8
A. M.	0,4
G. K.	2,2
H. R.	1,8
E. G.	1,2
J. S.	1,8
H. W.	2,4
F. H.	1,8

- Personen zwischen 40 und 49 Jahren

J. E.	1,0
H.	2,0
J. K.	1,0
H. F.	0,4
R.	1,6
B. K.	0,4
R.	0,8
H. K.	1,2
L. R.	0,4
M. M.	0,4
W. H.	0,4
B. R.	1,2
E. R.	1,2
S. B.	1,2
H. M.	0,4
F. K.	2,2
A. G.	0,4
H. H.	2,2
S.	0,4
A. G.	1,0
J.	1,6
S. J.	0,4

Name	FPA im Plasma, ng/ml
F. H.	0,4
A. B.	1,0
Z.	1,8
F.	1,0
N. Z.	1,4
H.	1,0
H. B.	1,8
M.	1,8
W. K.	1,8
J. S.	1,0
J. L.	1,8
F. A.	2,4
K. R.	0,4
H. M.	0,4
W. F.	0,8
E. R.	0,8
W. L.	1,2

- Personen über 50 Jahre

W.	0,4
B.	1,0
R.	1,6
R. P.	3,6
A. R.	0,4
F. F.	4,8
J. K.	1,6
H. L.	0,4
J. W.	0,4
M. M.	0,4
F. S.	0,4
K. M.	1,8
F. J.	2,2
E. H.	4,4
H. H.	2,6
K.	2,2
P. K.	1,0
G. L.	3,0
A. B.	0,4
C.	0,4
H.	0,4
H. O.	0,4
H.	1,8
A. K.	0,4
L. S.	2,4
S.	2,2
F. S.	2,8
A. A.	3,0
W.	1,4
J. K.	0,4

7.2.2. Fibrinopeptid-A-"Bildungskurven" von "Normalpersonen"
(Methodik siehe 4.2.1.)

FPA-Bildungskurven von "Normalpersonen". Die Proben wurden nach der Blutentnahme auf einem Rollenmischer permanent in Bewegung gehalten.

Nr.	Name	FPA Konzentration in ng/ml Plasma nach einer Reaktionszeit von 0 min	2 min	4 min	6 min	8 min	10 min	20 min	30 min
1	W.D.		2,8	5,4	8,8	8,4	21,0	1408	
2	P.B.		11,2	12,6	6,0	11,6	180,4	1450	
3	M.K.		2,4	3,4	7,0	36,4	42,4	1320	
4	W.M.		8.0	22,0	26,4	127,6	228,8	1309	
5	P.		13,6	23,6	22,0	42,6	186,0	1170	
$\bar{x}$			7,6	13,4	14,0	45,3	131,7	1237	
Spannbreite									
Minimum			2,4	3,4	6,0	8,4	21,0	1170	
Maximum			13,6	23,6	26,4	127,6	228,8	1450	

FPA-Bildungskurven von "Normalpersonen". Die Proben wurden nach der Blutabnahme nicht bewegt, sondern ruhig liegengelassen.

Nr.	Name	FPA-Konzentration in ng/ml Plasma nach einer Reaktionszeit von 0 min	4 min	6 min	10 min	20 min	30 min
6	L.B.	1,4		97,4	139,2	670,4	1344
7	N.	5,8		118,9	149,8	1328,0	1344
8	M.	0,6	8,1	12,4	123,8	933,8	1344
9	V.	1,9	2,1	4,5	123,8	957,1	1344
10	M.L.		18,4	34,9	106,4	968,8	
11	A.H.	3,4	13,6	19,1	25,8	419,2	1344
12	H.	4,5	9,9	25,6	136,6	546,5	1344
13	K.	3,9	3,9	4,8	34,5	815,0	1344
14	U.	4,6	5,6	5,3	44,9	361,4	1344
15	Ho.	3,2	14,5	37,7	50,9	1061,0	1344
$\bar{x}$		3,2	9,5	36,0	93,5	806,2	1344
Spannbreite							
Minimum		0,6	2,1	4,5	25,8	361,4	
Maximum		5,8	18,4	118,9	149,8	1328,0	1344
$\bar{x}$ (n = 15)		3,2	7,6	11,5	25	45,3	112,5	1027,6	

7.3. Patienten mit hyperdynamen septischen Schock (Patientengut, Therapie siehe 2.3.)

Der Beobachtungszeitraum von 18 Patienten mit hyperdynamem septischem Schock erstreckte sich über vier Tage. Die klinischen und biochemischen Parameter wurden am ersten Tag 6- bzw. 12-stündlich, weiterhin bis zum zweiten Tag 12-stündlich sowie am dritten und vierten Tag 24-stündlich bestimmt.

FPA-Absolutwerte bei Patienten im hyperdynamen septischen Schock. Grundkrankheit und Sepsisherd sind den folgenden Graphiken zu entnehmen.

Nr.	Name	FPA-Konzentration in ng/ml Plasma nach 0	12	24	36	48	72	96
		Stunden im hyperdynamen septischen Schock						
1	B.J.	36,2	9,4	35,0	----	----	----	----
2	S.C.	9,0	5,4	32,4	----	6,0	9,0	10,4
3	K.G.	0,4	0,4	1,4	----	2,0	0,4	0,4
4	H.B.	0,4	0,4	2,4	----	6,0	6.4	1,0
5	M.J.	0,4	1,0	0,4	----	6,0	5,4	3,0
6	K.J.	2,8	8,0	5,6	----	10,2	6,4	4,8
7	F.K.	11,4	5,6	8,0	----	4,8	3,6	4.0
8	B.M.	8.4	11,4	13,0	----	13,8	11,8	11,0
9	A.H.	19,8	66,4	27,2	(73,0)	----	----	----
10	D.A.	16,6	29,2	75,4	----	7,2	17,0	----
11	K.M.	33,6	9,8	8,6	11,2	8,0	7,6	----
12	St.K.	10,4	9,8	9,2	17,2	6,4	5,6	30,6
13	R.V.	23,6	16,6	18,2	16,2	19,8	16,4	60,8
14	T.H.	8,0	74,2	25,6	12,4	53,0	41,6	38,0
15	St.B.	8,6	39,0	29,4	8,6	5,6	9,2	36,4
16	K.J.	3,6	1,4	2,4	----	1,7	2,2	27,6
17	G.H.	12,2	7,9	7,0	18,4	2,2	----	5,4
18	Sc.K.	29,1	33,0	10,2	8,2	23,5	14,8	16,8
1-18	$\bar{x}$	13,0	18,3	17,3	13,2	10,4	10,5	17,9
Spannbreite								
Minimum:		0,4	0,4	0,4	8,2	1,7	0,4	0,4
Maximum:		36,2	74,2	75,4	18,4	54,0	41,6	60,8

Absolutwerte der Fibrinspaltprodukte (J. Witte 1979)
Normalbereich: 0 - 10 µg/ml

Nr.	Name	FDP-Konzentration in g/ml Plasma nach 0	12	24	36	48	72	96
		Stunden im hyperdynamen septischen Schock						
1	B.J.	----	----	----	----	----	----	----
2	S.C.	8	6	8	8	6	6	12
3	K.G.	8	8	8	4	8	6	6
4	H.B.	2	1	2	4	4	4	4
5	M.J.	16	16	16	16	16	10	12
6	K.J.	32	32	40	32	32	64	----
7	F.K.	16	32	32	16	12	12	16
8	B.M.	50	32	24	24	24	20	24
9	A.H.	16	24	24	20	----	----	----
10	D.A.	8	16	12	12	8	12	----
11	K.M.	8	16	8	16	12	8	----
12	S.K.	64	32	16	16	8	8	8
13	R.V.	20	16	12	12	12	12	12
14	T.H.	32	16	12	12	8	8	16
15	S.B.	12	8	8	10	6	6	4
16	K.J.	32	16	20	24	24	8	6
17	G.H.	8	8	6	4	3	2	3
18	S.K.	32	24	16	8	8	10	16
1-18	$\bar{x}$	21,4	17,8	15,5	14,0	11,3	12,3	9,9
Spannweite:								
Minimum:		2	1	2	4	3	2	3
Maximum:		64	32	40	32	32	64	24

Absolutwerte des Hitzefibrinogens (J. Witte 1979) (54)
Normalbereich: 180 - 330 mg/100 ml

Nr.	Name	Fibrinogen-Konzentration in mg/100 ml Plasma 0	12	24	36	48	72	96
1	B.J.	270	240	180	----	----	----	----
2	S.C.	270	335	300	----	270	335	300
3	K.G.	370	370	370	----	370	370	370
4	H.B.	270	300	300	----	300	240	335
5	M.J.	370	370	370	----	270	335	240
6	K.J.	380	300	240	----	240	240	----
7	F.K.	500	370	500	----	400	370	370
8	B.M.	300	180	270	----	270	275	270
9	A.H.	330	335	300	----	335	----	----
10	D.A.	430	300	320	----	560	400	----
11	K.M.	310	----	335	----	500	370	----
12	S.K.	370	355	335	----	300	400	240
13	R.V.	210	300	320	----	310	320	400
14	T.H.	625	240	180	----	300	250	270
15	S.B.	370	200	180	----	300	120	180
16	K.J.	270	310	370	----	350	300	240
17	G.H.	370	360	390	----	430	370	300
18	S.K.	460	430	420	----	420	400	300
1-18	$\bar{x}$	~360	~310	~320	----	~350	~320	~300

Absolutwerte der Thrombozyten. Normalbereich: 200-350 x $10^3/mm^3$

Nr.	Name	Thrombozyten x $10^2/mm^3$ nach 0	12	24	36	48	72	96
		Stunden im hyperdynamen septischen Schock						
1	B.J.	264	55	33	----	----	----	----
2	S.C.	154	209	384	----	473	297	231
3	K.G.	506	349	517	----	693	825	1474
4	H.B.	971	1145	1100	----	982	979	693
5	M.J.	877	1210	132	----	614	759	935
6	K.J.	814	572	----	----	1243	1001	----
7	F.K.	2563	2321	----	----	2750	1849	----
8	B.M.	732	1540	1518	----	1296	1880	2574
9	A.H.	1528	1309	440	----	----	----	----
10	D.A.	2541	1144	941	----	1174	781	----
11	K.M.	1028	----	451	----	231	165	----
12	S.K.	627	579	539	----	341	792	187
13	R.V.	146	451	1067	----	1027	968	264
14	T.H.	2453	869	561	----	394	209	363
15	S.B.	1766	466	572	----	519	495	176
16	K.J.	1870	1507	1738	----	1527	1520	847
17	G.H.	1683	1960	1721	----	1573	2170	1683
18	S.K.	1408	1180	1210	----	719	639	292
$\bar{x}$		1218	992	808	----	972	958	810

Absolutwerte des Prothrombinindexes. Normalbereich 70 - 100 %

Nr.	Name	Prothrombinindex in % nach 0	12	24	48	72	96
		Stunden im hyperdynamen septischen Schock					
1	B.J.	80	42	75	----	----	----
2	S.C.	84	84	70	80	55	55
3	K.G.	80	100	82	100	100	84
4	H.B.	72	80	93	75	77	100
5	M.J.	55	68	67	50	60	84
6	K.J.	47	48	59	50	40	----
7	F.K.	47	58	46	60	62	61
8	B.M.	69	36	62	42	58	46
9	A.H.	77	67	50	52	----	----
10	D.A.	75	40	55	46	65	----
11	K.M.	95	----	48	44	61	----
12	S.K.	59	51	48	46	79	54
13	R.V.	40	48	69	45	53	58
14	T.H.	50	51	69	29	71	48
15	S.B.	63	66	39	55	54	52
16	K.J.	56	41	73	56	29	51
17	G.H.	67	42	38	33	48	75
18	S.K.	49	42,5	40,8	40,2	36,8	41,5
1-18	$\bar{x}$	64,7 $\pm$3,6	56,8 $\pm$4,4	60,2 $\pm$3,7	53,1 $\pm$4,3	59,3 $\pm$4,4	62,3 $\pm$4,9

Absolutwerte der Thrombinzeiten. Normalbereich II - 13 sec

Nr.	Name	Thrombinzeit in Sekunden nach 0 Stunden im hyperdynamen septischen Schock 0	12	24	48	72	96
1	B.J.	12,8	16,4	13,3	----	----	----
2	S.C.	12,6	11,8	12,2	12,6	11,0	11,5
3	K.G.	14,6	11,2	12,0	12,4	13,8	14,3
4	H.B.	15,1	14,0	15,0	13,6	14,0	14,3
5	M.J.	11,0	12,9	11,6	12,4	12,6	13,7
6	K.J.	13,7	13,8	13,8	13,8	13,4	----
7	F.K.	12,1	11,4	11,6	11,4	11,8	13,6
8	B.M.	14,6	14,1	12,8	12,0	12,7	14,0
9	A.H.	9,7	10,1	11,7	10,0	----	----
10	D.A.	10,5	10,4	11,1	13,0	11,1	----
11	K.M.	10,2	----	12,0	10,6	10,4	----
12	S.K.	8,8	10,8	13,9	13,4	12,3	15,3
13	R.V.	12,5	12,4	12,2	11,2	12,0	9,8
14	T.H.	10,6	14,2	13,4	18,0	15,6	12,8
15	S.B.	14,6	11,4	13,0	18,5	11,4	13,4
16	K.J.	11,0	9,5	10,0	10,6	10,6	10,0
17	G.H.	10,5	9,8	9,8	9,8	10,8	9,8
18	S.K.	11,3	13,3	14,1	16,8	20,2	14,6
1-18	$\bar{x}$ =	12,0 $\pm$0,5	12,2 $\pm$0,5	12,4 $\pm$0,3	12,9 $\pm$0,6	12,7 $\pm$0,6	12,9 $\pm$0,5

In den folgenden Abbildungen sind für jeden der 18 Patienten mit hyperdynamen septischen Schock die in den vorangegangenen Tabellen genannten Parameter graphisch gegenübergestellt. Abb. 7.3.19 zeigt den mittleren Verlauf (n = 18) der Fibrinopeptid-A-Konzentration im Verlauf des hyperdynamen septischen Schockes.

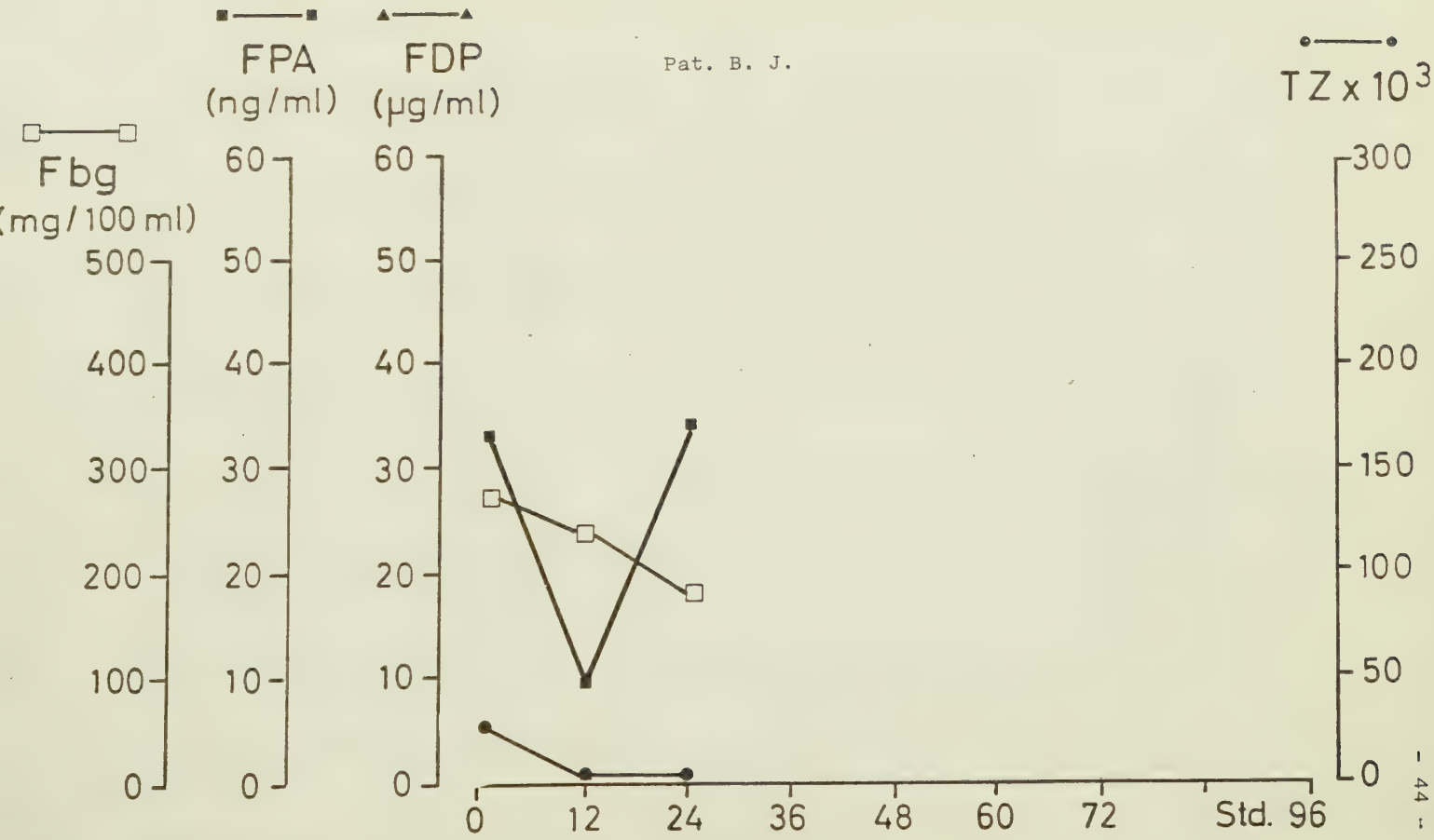

FPA
(ng/ml)
FDP
(µg/ml)
Pat. B. J.
TZ x 10³
Fbg
(mg/100 ml)
500
400
300
200
100
0
60
50
40
30
20
10
0
60
50
40
30
20
10
0
300
250
200
150
100
50
0
0
12
24
36
48
60
72
Std. 96

Abb. 7.3.1

Abb. 7.3.1: Pat. Nr. 1, B. J., 46 Jahre, w, chronische Pankreatitis, Sepsisherd: Pneumonie. Die Patientin ist am 3. Tag verstorben. Die FPA-Werte sind bei allen Meßwerten weit über dem Normalbereich.

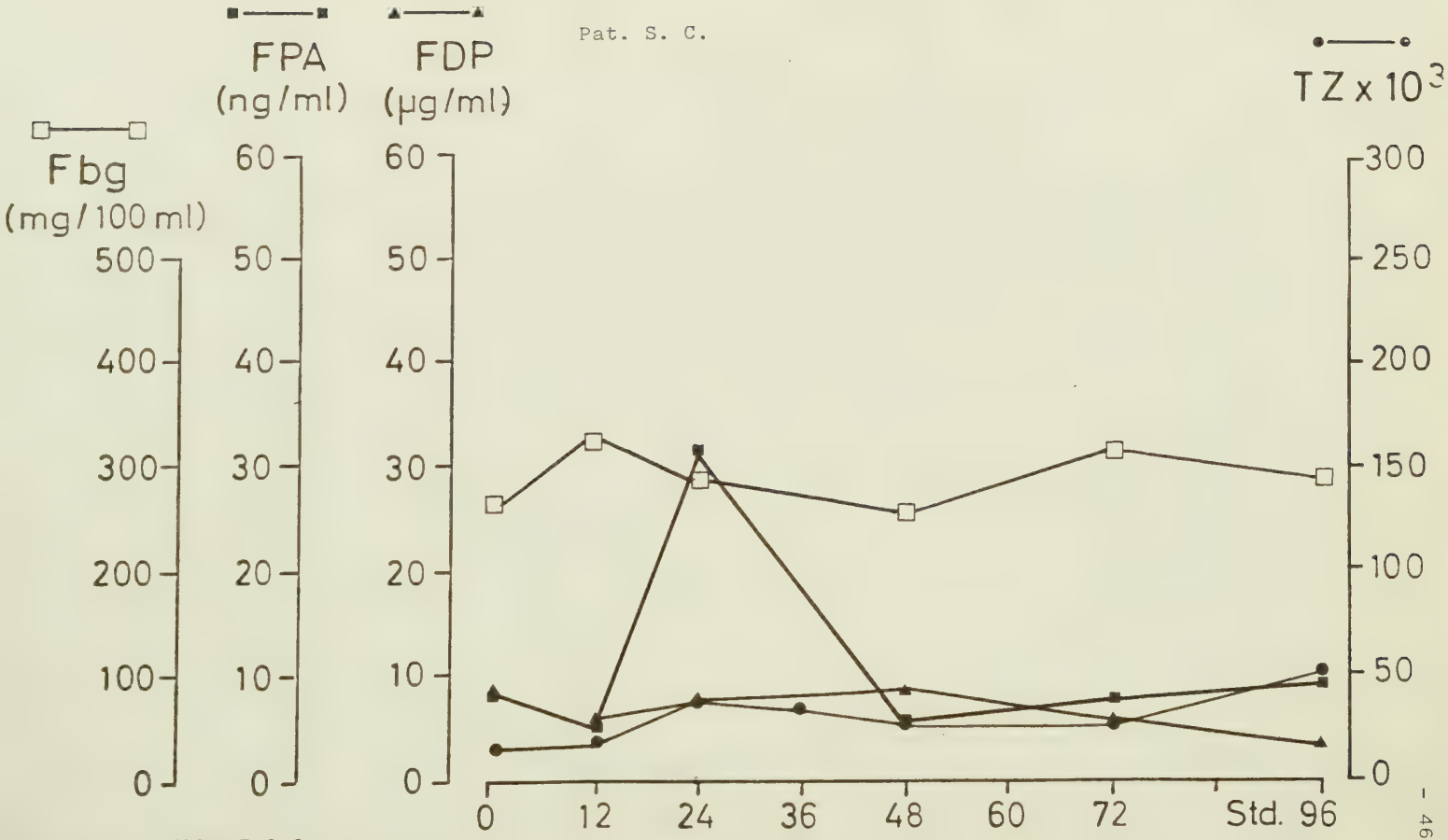

Pat. S. C.
FPA
(ng/ml)
FDP
(µg/ml)
TZ x 10³
Fbg
(mg/100 ml)
500
400
300
200
100
0
60
50
40
30
20
10
0
60
50
40
30
20
10
0
300
250
200
150
100
50
0
0
12
24
36
48
60
72
Std. 96

Abb. 7.3.2

Abb. 7.3.2: Pat. Nr. 2, S.C., 36 Jahre, m, Ulcus pepticum jejunum, Sepsisherd: Pneumonie, sept. Metastasen. Der Patient verstarb 29 Tage nach Beginn des septischen Schockes. Während Quickwert und Thrombinzeit im Bereich der Norm liegen, sind die FPA-Werte erhöht.

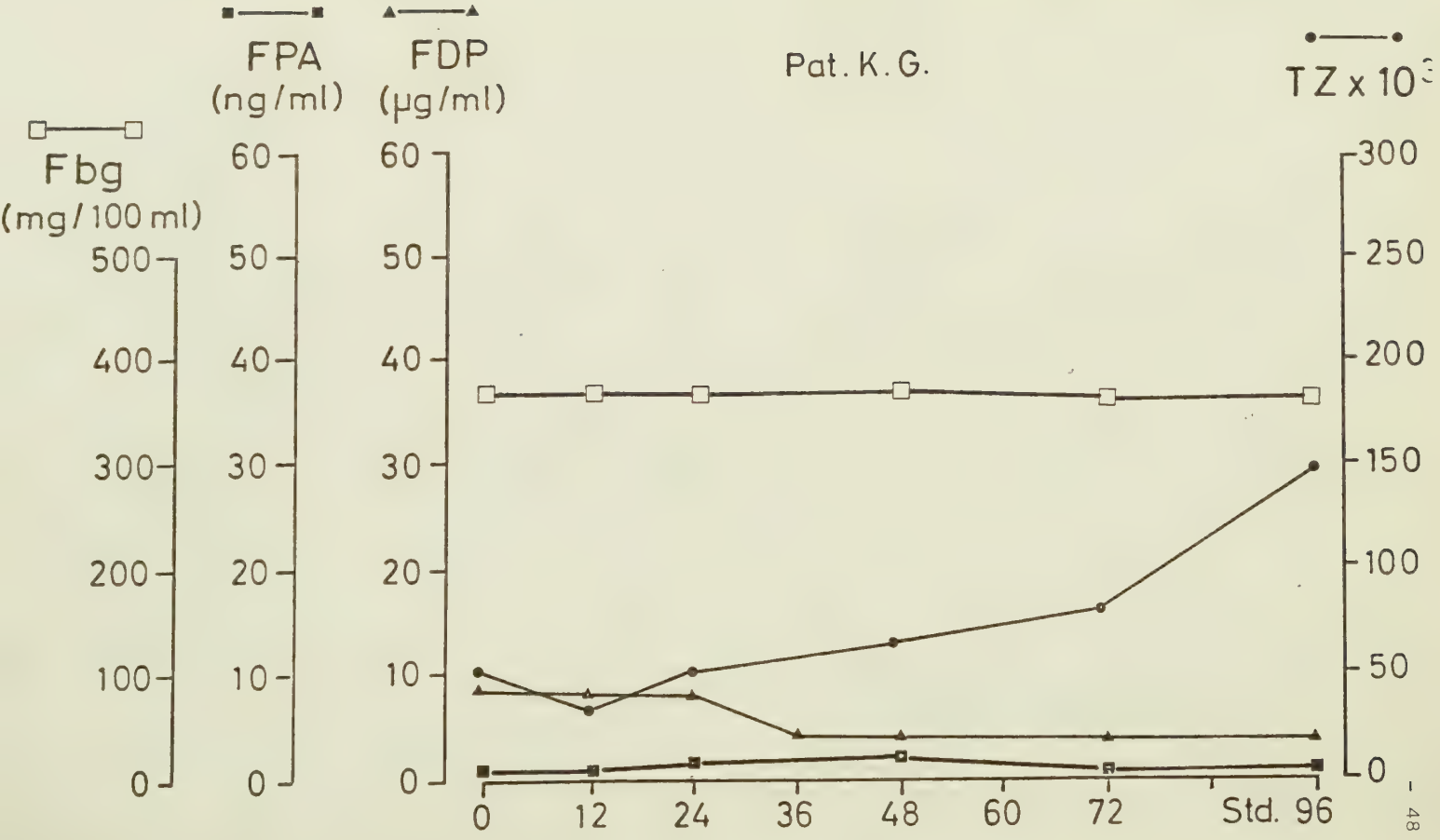

FPA
(ng/ml)
FDP
(µg/ml)
Pat. K. G.
TZ x 10³
Fbg
(mg/100 ml)
500
400
300
200
100
0
60
50
40
30
20
10
0
60
50
40
30
20
10
0
300
250
200
150
100
50
0
0
12
24
36
48
60
72
Std. 96

Abb. 7.3.3

Abb. 7.3.3: Pat. Nr. 3, K. G., 54 Jahre, m, Pankreaskarzinom
Sepsisherd: Peritonitis, Pneumonie. Der Patient verstarb am 19. Tag nach Beginn des septischen Schockes. FPA und FDP Werte sind nicht erhöht. Auch Quickwert und Thrombinzeit liegen im Bereich der Norm.

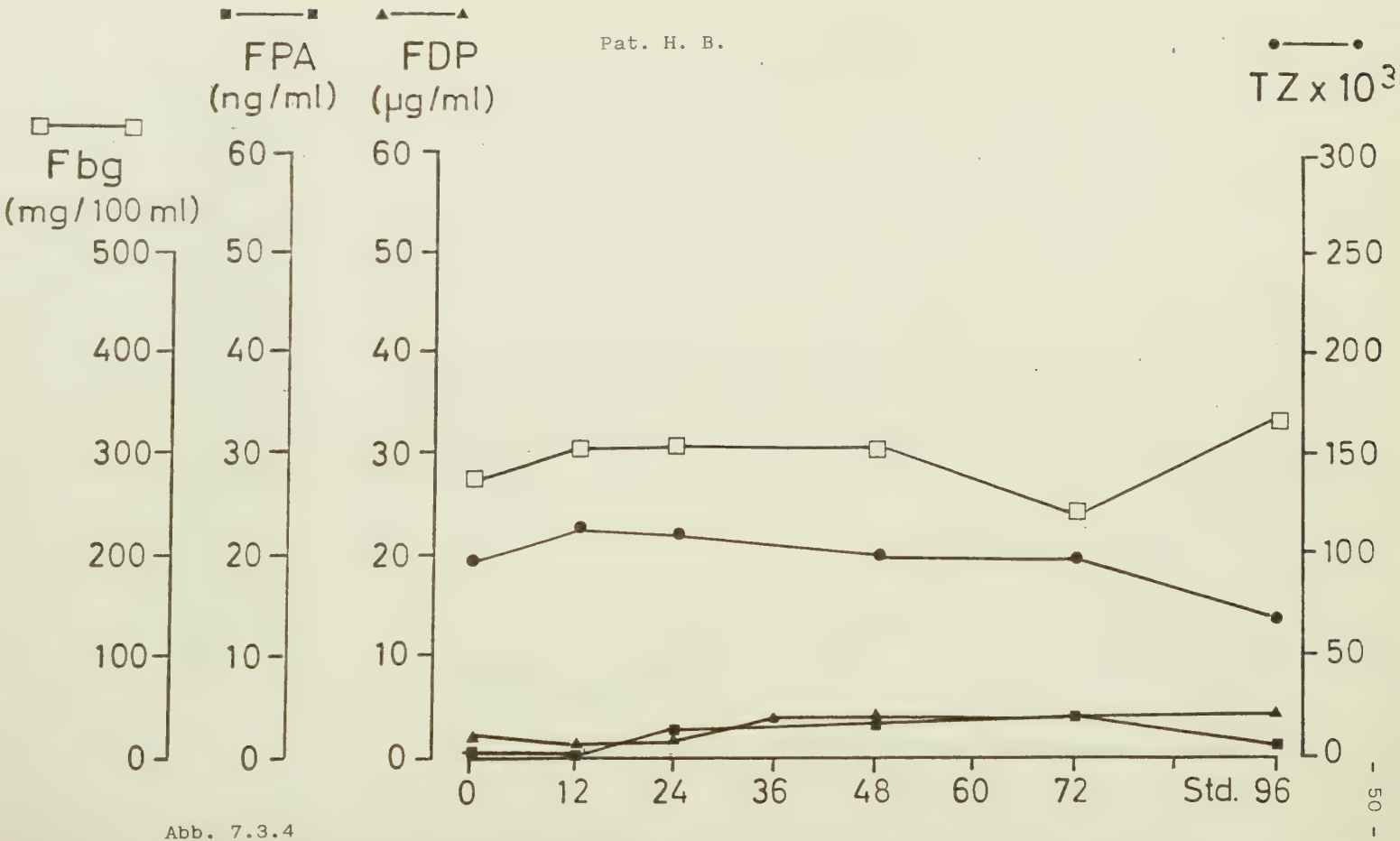

Pat. H. B.
FPA
(ng/ml)
FDP
(µg/ml)
TZ x 10³
Fbg
(mg/100 ml)
500
400
300
200
100
0
60
50
40
30
20
10
0
60
50
40
30
20
10
0
300
250
200
150
100
50
0
0
12
24
36
48
60
72
Std. 96

Abb. 7.3.4

Abb. 7.3.4: Pat. Nr. 4, 62 Jahre, w, Ulcus-Perforation, Sepsisherd: Peritonitis, Pneumonie. Die Patientin verstarb am 4. Tag nach Beginn des septischen Schockes. Die FPA Werte sind minimal erhöht.

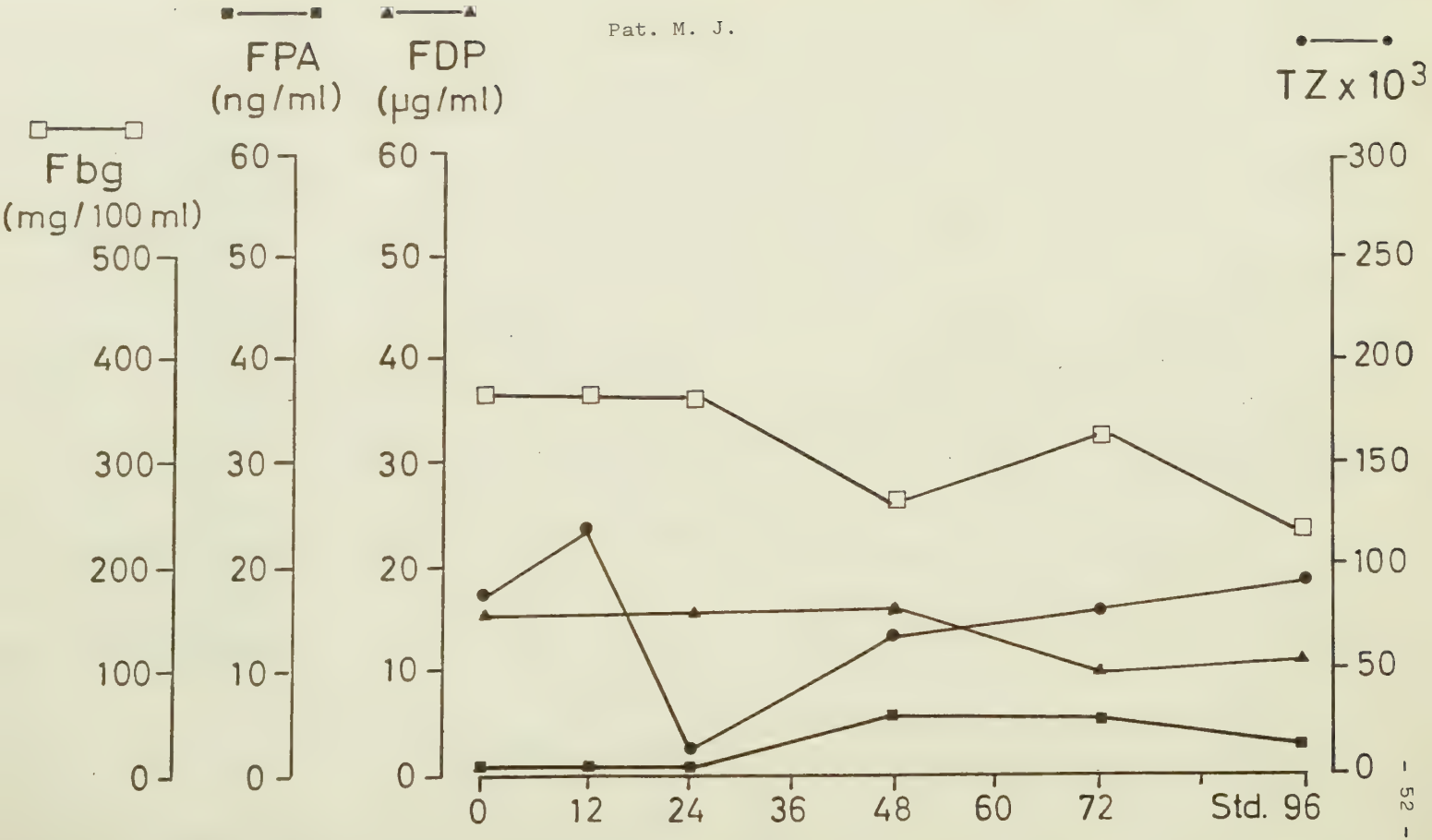

Pat. M. J.
FPA
(ng/ml)
FDP
(µg/ml)
TZ x 10³
Fbg
(mg/100 ml)
500
400
300
200
100
0
60
50
40
30
20
10
0
60
50
40
30
20
10
0
300
250
200
150
100
50
0
0
12
24
36
48
60
72
Std. 96

Abb. 7.3.5

Abb. 7.3.5: Pat. Nr. 5, M. J., 65 Jahre, m, Cholelithiasis Sepsisherd: Pneumonie, Peritonitis. Der Patient verstarb 26 Tage nach Beginn des septischen Schockes. Nur die FPA Werte am 2. und 3. Tag sind mit 6 ng/ml und 5,4 ng ml leicht erhöht. Nach 24 h ist ein starker Thrombozytensturz festzustellen.

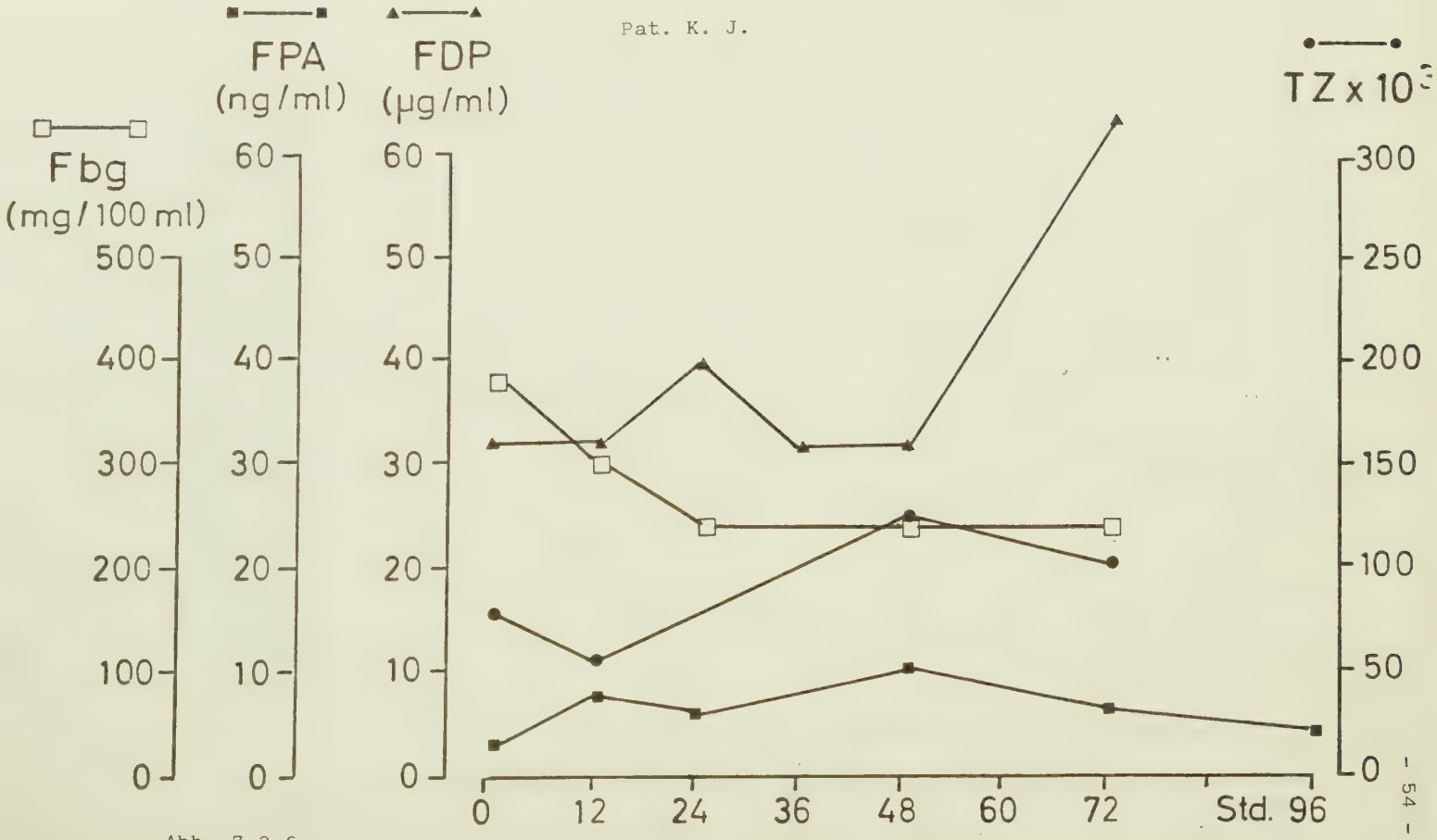

Pat. K. J.
FPA
(ng/ml)
FDP
(µg/ml)
TZ x 10
Fbg
(mg/100 ml)
500
400
300
200
100
0
60
50
40
30
20
10
0
60
50
40
30
20
10
0
300
250
200
150
100
50
0
0
12
24
36
48
60
72
Std. 96

Abb. 7.3.6

Abb. 7.3.6: Pat. Nr. 6, K. J., 44 Jahre, m, Pankreas-Pseudozyste
Sepsisherd: Abszendierende Pyelonephritis, Pneumonie. Der Patient verstarb am 54. Tag nach Beginn des septischen Schockes. Die FPA Werte sind nach 12, 24, 48 und 72 Stunden deutlich erhöht. Auch die FDP liegt weit über dem Normalbereich.

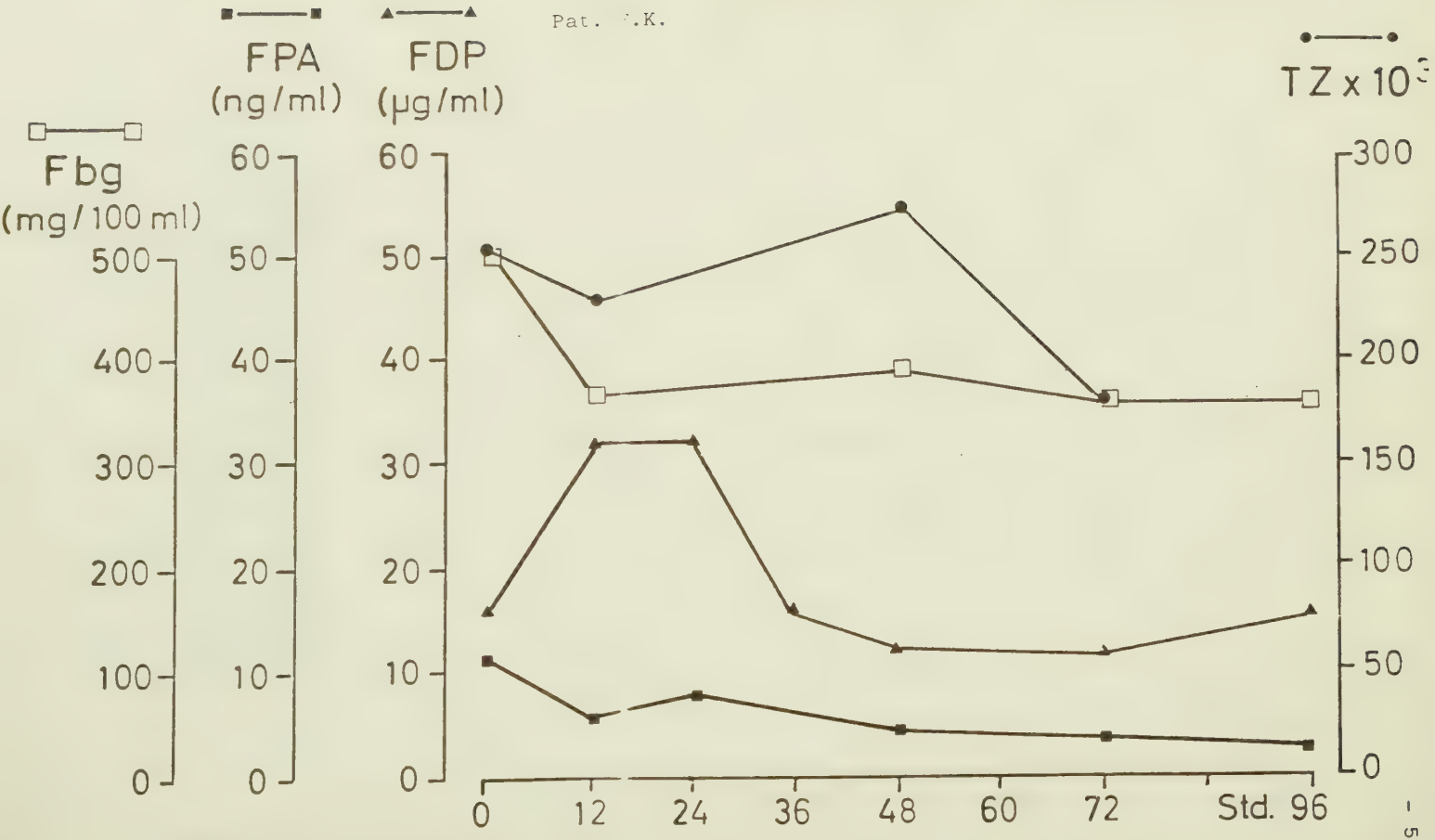

Pat. K.
FPA
(ng/ml)
FDP
(µg/ml)
TZ x 10
Fbg
(mg/100 ml)
500
400
300
200
100
0
60
50
40
30
20
10
0
60
50
40
30
20
10
0
300
250
200
150
100
50
0
0
12
24
36
48
60
72
Std. 96

Abb. 7.3.7

Abb. 7.3.7: Pat. Nr. 7, F. K., 66 Jahre, m, Rektum-Karzinom Sepsisherd: Peritonitis, Sakralabszeß. Der Patient wurde innerhalb des 4tägigen Beobachtungszeitraumes einmal operiert. Er verstarb 84 Tage nach Beginn der septischen Schocksymptomatik. Der FPA Spiegel war deutlich am Beginn des septischen Schockes erhöht. Außer einem erhöhten FDP Spiegel und einem verminderten Quickwert, sind die restlichen Parameter im Normalbereich.

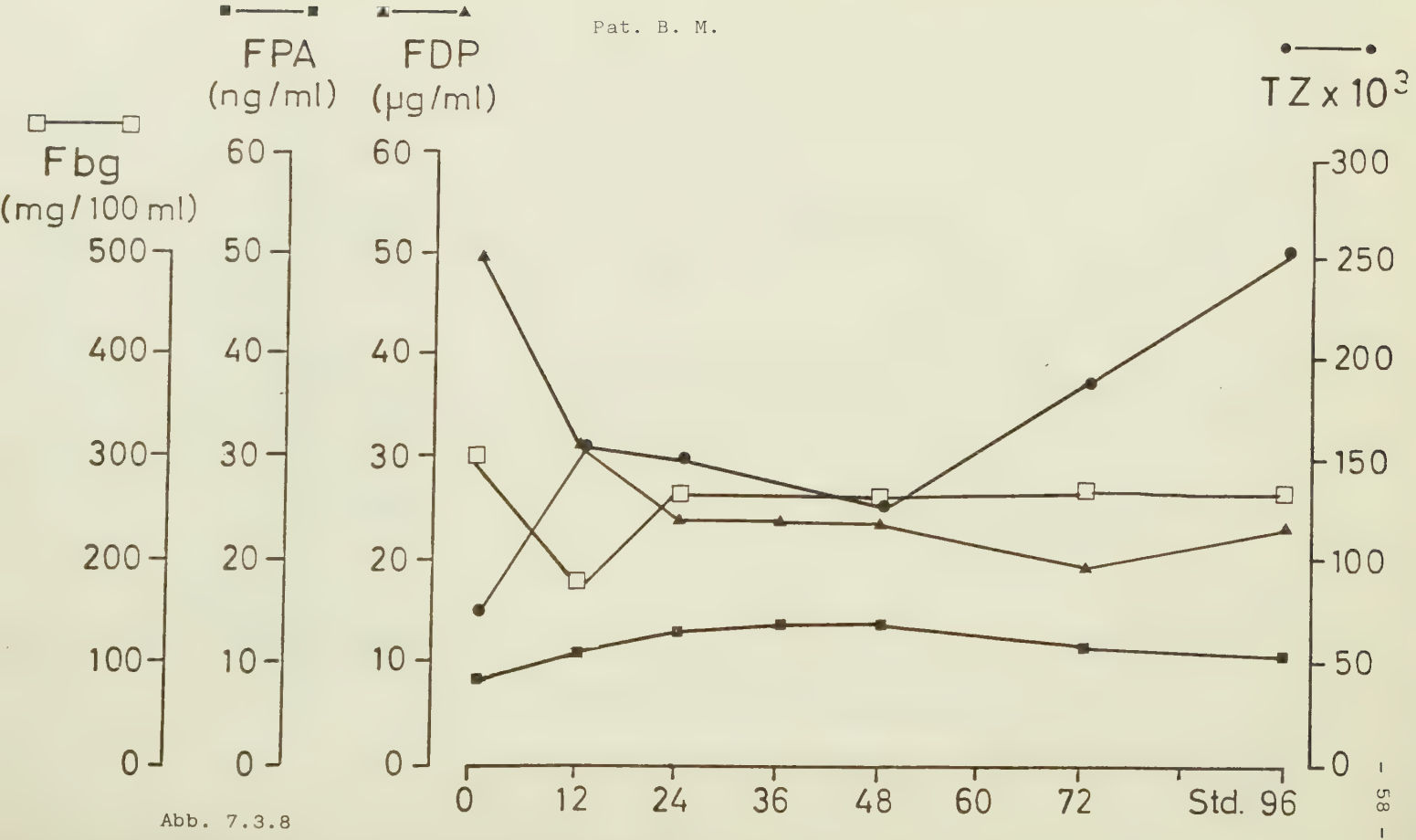

Pat. B. M.
FPA
(ng/ml)
FDP
(µg/ml)
TZ x 10³
Fbg
(mg/100 ml)
500
400
300
200
100
0
60
50
40
30
20
10
0
60
50
40
30
20
10
0
300
250
200
150
100
50
0
0
12
24
36
48
60
72
Std. 96

Abb. 7.3.8

Abb. 7.3.8: Pat. Nr. 8, B. M. 70 Jahre, w, Gastrointestinale Blutungen (Ulkus ventrikuli)
Sepsisherd: Peritonitis. Die Patientin verstarb nach 8 Tagen. Die FPA Werte sind während des ganzen Beobachtungszeitraumes deutlich erhöht. Gleiches gilt für FDP.

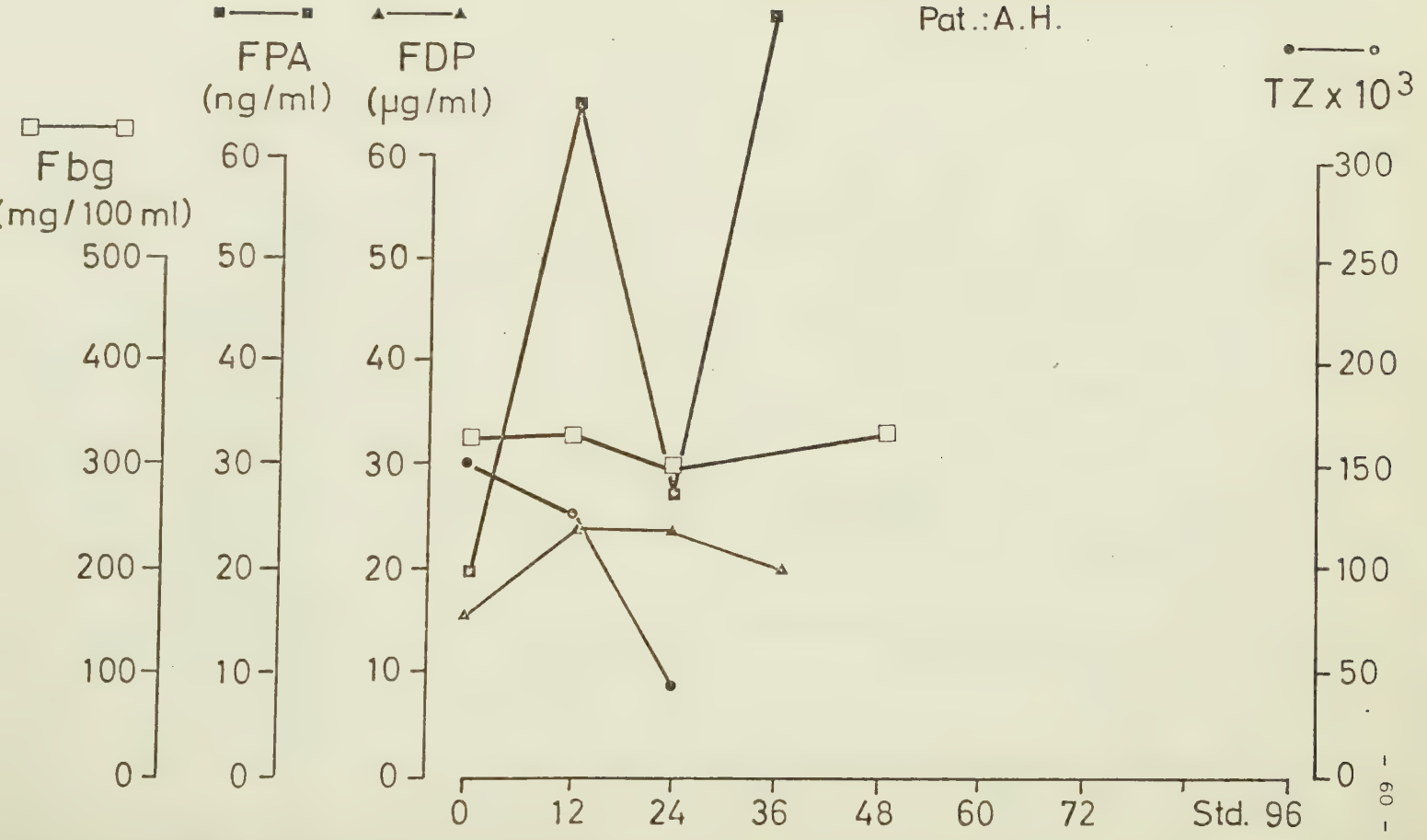

Pat.: A.H.
Fbg
(mg/100 ml)
FPA
(ng/ml)
FDP
(µg/ml)
TZ x 10³
500
400
300
200
100
0
60
50
40
30
20
10
0
300
250
200
150
100
50
0
60
0
12
24
36
48
60
72
Std. 96

Abb. 7.3.9

Abb. 7.3.9: Pat. Nr. 9, A. H., 70 Jahre, m, Cardia-Karzinom, Sepsisherd: Retrocol. Abszeß, Pneumonie. Der Patient wurde im Beobachtungszeitraum einmal operiert. Er verstarb innerhalb dieser 4 Tage. Die FPA Werte zeigen Erhöhungen auf 66,4 ng/ml und auf 73 ng/ml. Die Thrombozyten sind nach 24 Stunden stark abgefallen. Auch FDP ist vermehrt.

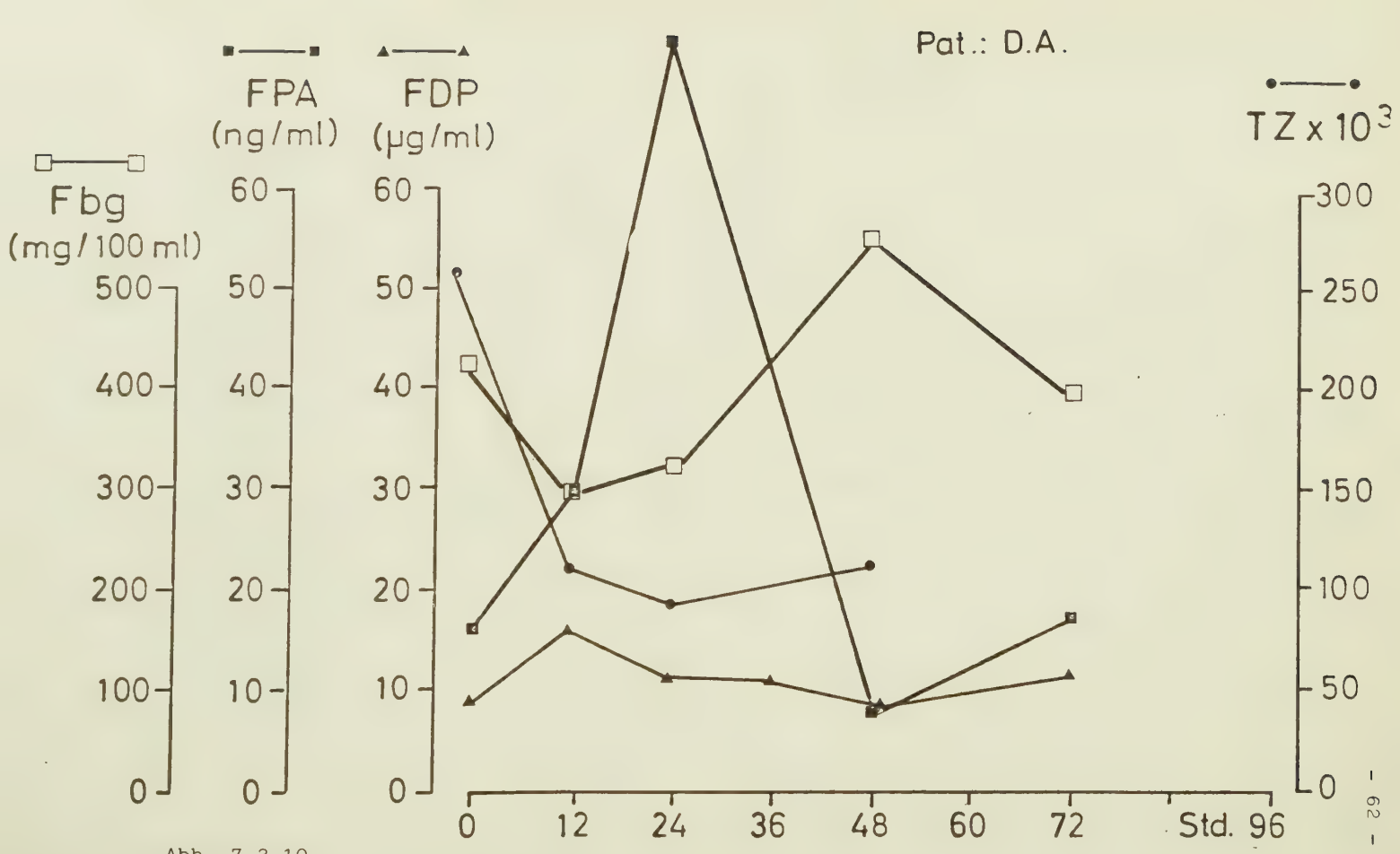

Pat.: D.A.
Fbg
(mg/100 ml)
FPA
(ng/ml)
FDP
(µg/ml)
TZ x 10³
500
400
300
200
100
0
60
50
40
30
20
10
0
60
50
40
30
20
10
0
300
250
200
150
100
50
0
0
12
24
36
48
60
72
Std. 96

Abb. 7.3.10

Abb. 7.3.10: Pat. Nr. 10, D. A., 56 Jahre, m, Blasenkarzinom
Sepsisherd: Peritonitis. Der Patient wurde innerhalb der 4 Tage einmal operiert und verstarb 6 Tage nach Beginn des septischen Schockes. Alle FPA-Werte sind stark erhöht (bis auf 75,4 ng/ml). Auch der Fibrinogenspiegel liegt über dem Normalbereich.

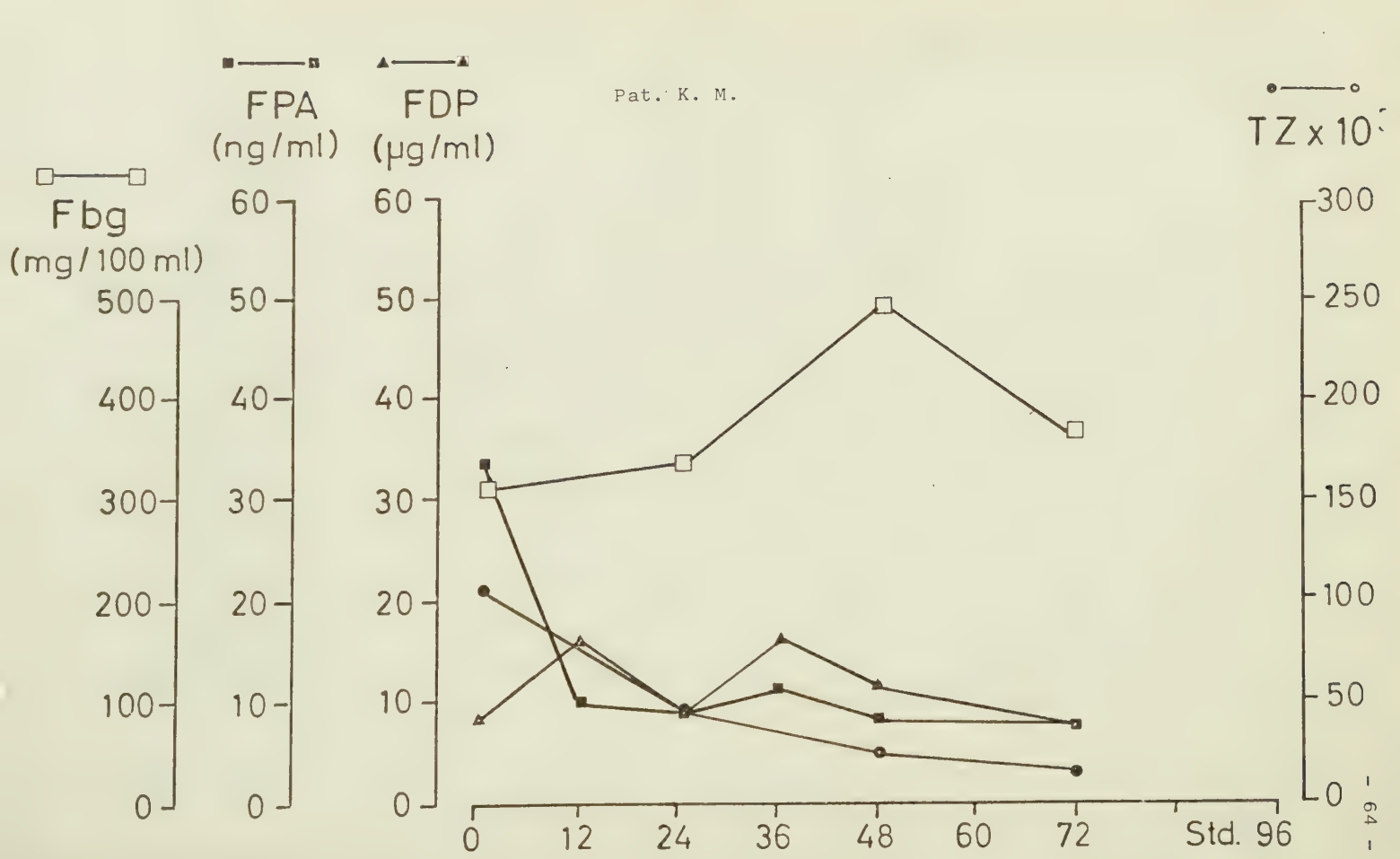

Pat. K. M.
FPA (ng/ml)
FDP (µg/ml)
TZ x 10⁻
Fbg (mg/100 ml)
500
400
300
200
100
0
60
50
40
30
20
10
0
250
150
50
0
12
24
36
48
60
72
Std. 96

Abb. 7.3.11

Abb. 7.3.11: Pat. Nr. 11, K. M., 46 Jahre, w, Duodenal-Divertikel Sepsisherd: Peritonitis, Pneumonie. Die Patientin verstarb 21 Tage nach Beginn der Schocksymptomatik. Die FPA-Werte sind während des ganzen Beobachtungszeitraumes erhöht. Auch FDP liegt über dem Normalbereich.

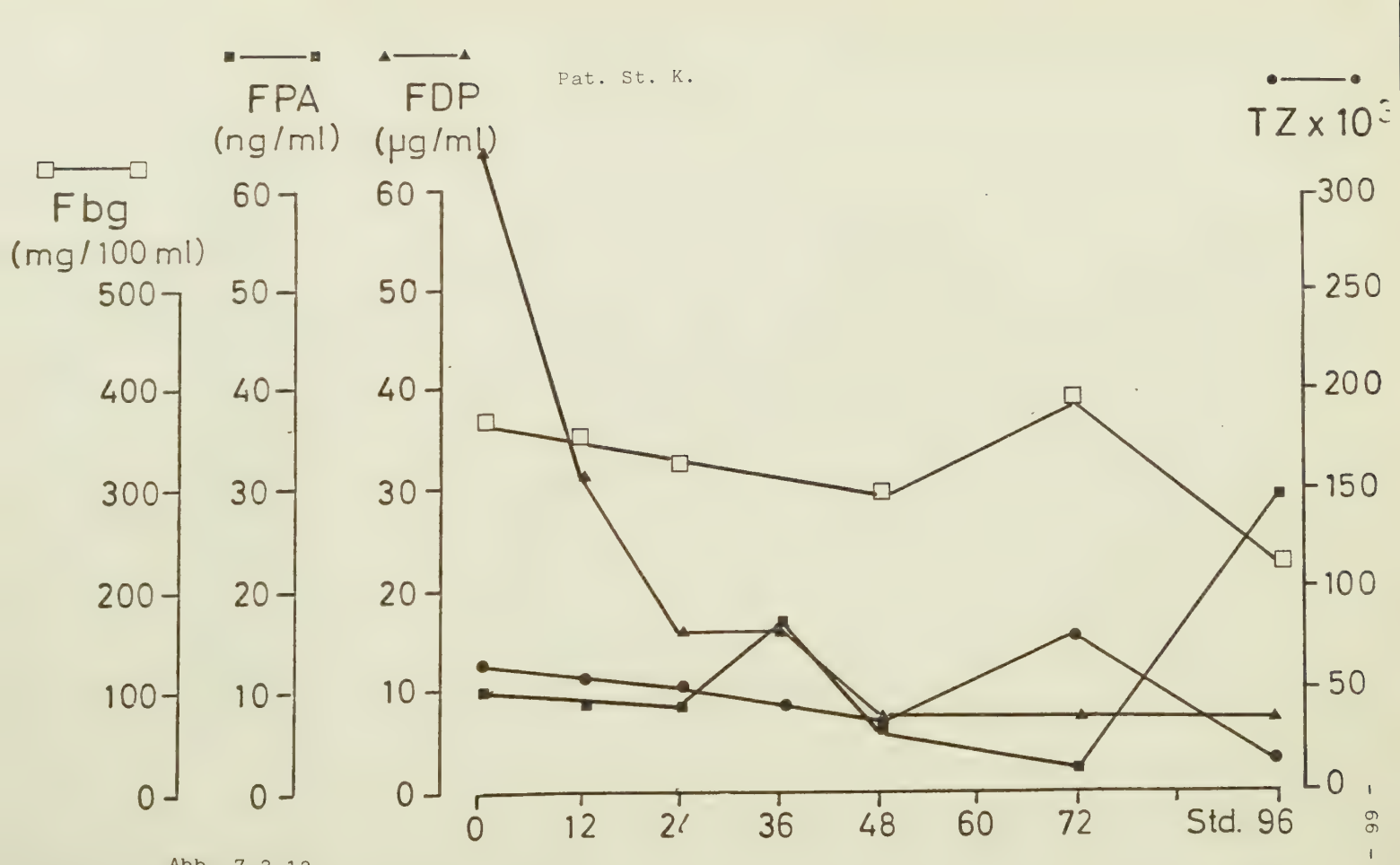

Pat. St. K.
FPA
(ng/ml)
FDP
(µg/ml)
TZ x 10
Fbg
(mg/100 ml)
500
400
300
200
100
0
60
50
40
30
20
10
0
60
50
40
30
20
10
0
300
250
200
150
100
50
0
0
12
24
36
48
60
72
Std. 96

Abb. 7.3.12

Abb. 7.3.12: Pat. Nr. 12, St. K., 53 Jahre, m. Nierenabszeß rechts
Sepsisherd: Nierenabszeß, Pneumonie. Der Patient wurde innerhalb der 4 Tage einmal operiert. Er verstarb 19 Tage nach Beginn des septischen Schockes. Die FPA-Werte waren deutlich erhöht. Auch FDP liegt über dem Normalbereich.

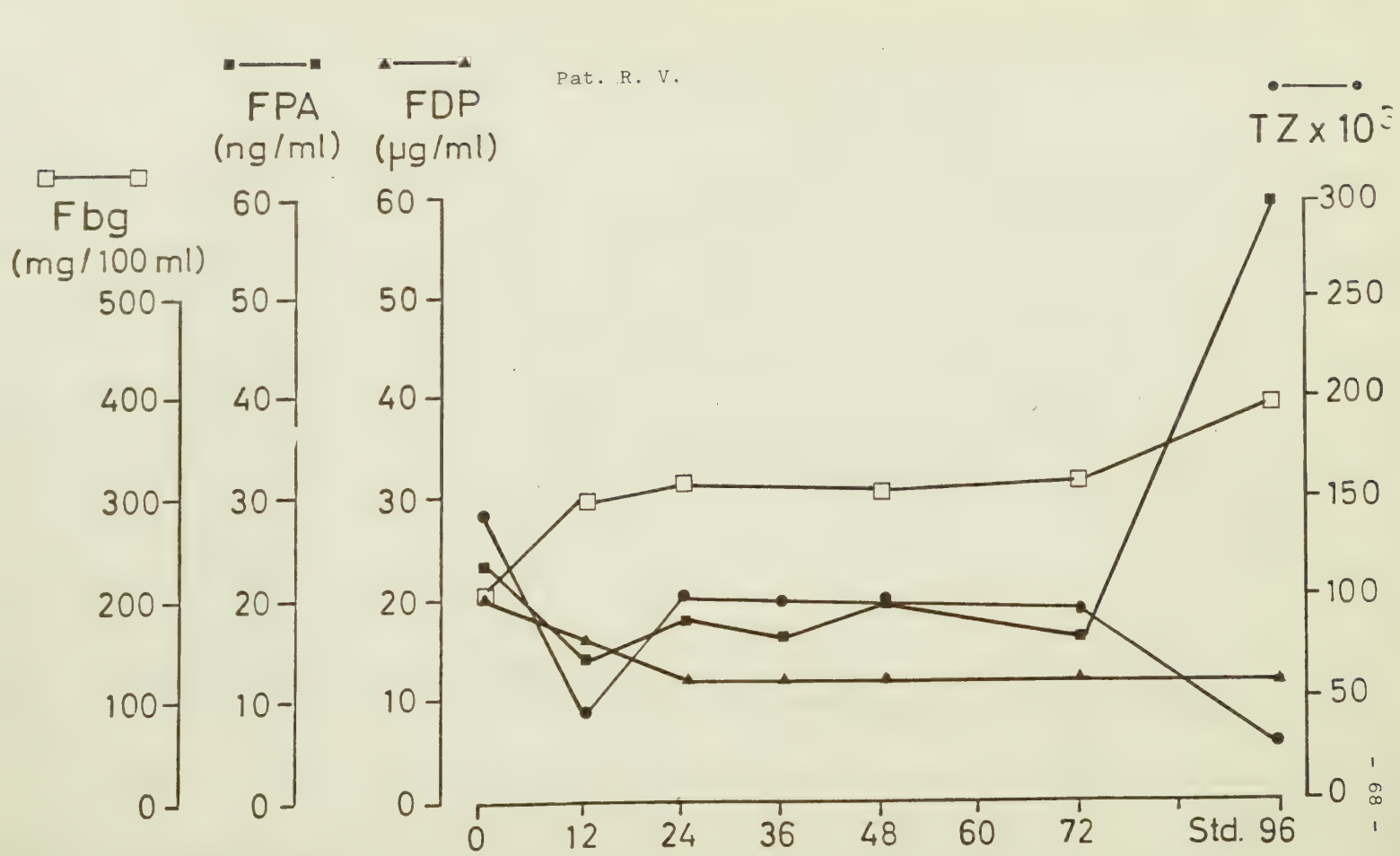

Pat. R. V.
FPA
(ng/ml)
FDP
(µg/ml)
TZ x 10
Fbg
(mg/100 ml)
500
400
300
200
100
0
60
50
40
30
20
10
0
60
50
40
30
20
10
0
300
250
200
150
100
50
0
0
12
24
36
48
60
72
Std. 96

Abb. 7.3.13

Abb. 7.3.13: Pat. Nr. 13, R. V., 27 Jahre, m, Pankreas-Nekrose Sepsisher: Pankreasabszeß. Der Patient wurde innerhalb der 4 Tage einmal operiert. Er verstarb noch innerhalb des Beobachtungszeitraumes. Die FPA-Werte sind bis auf 60,8 ng/ml erhöht.

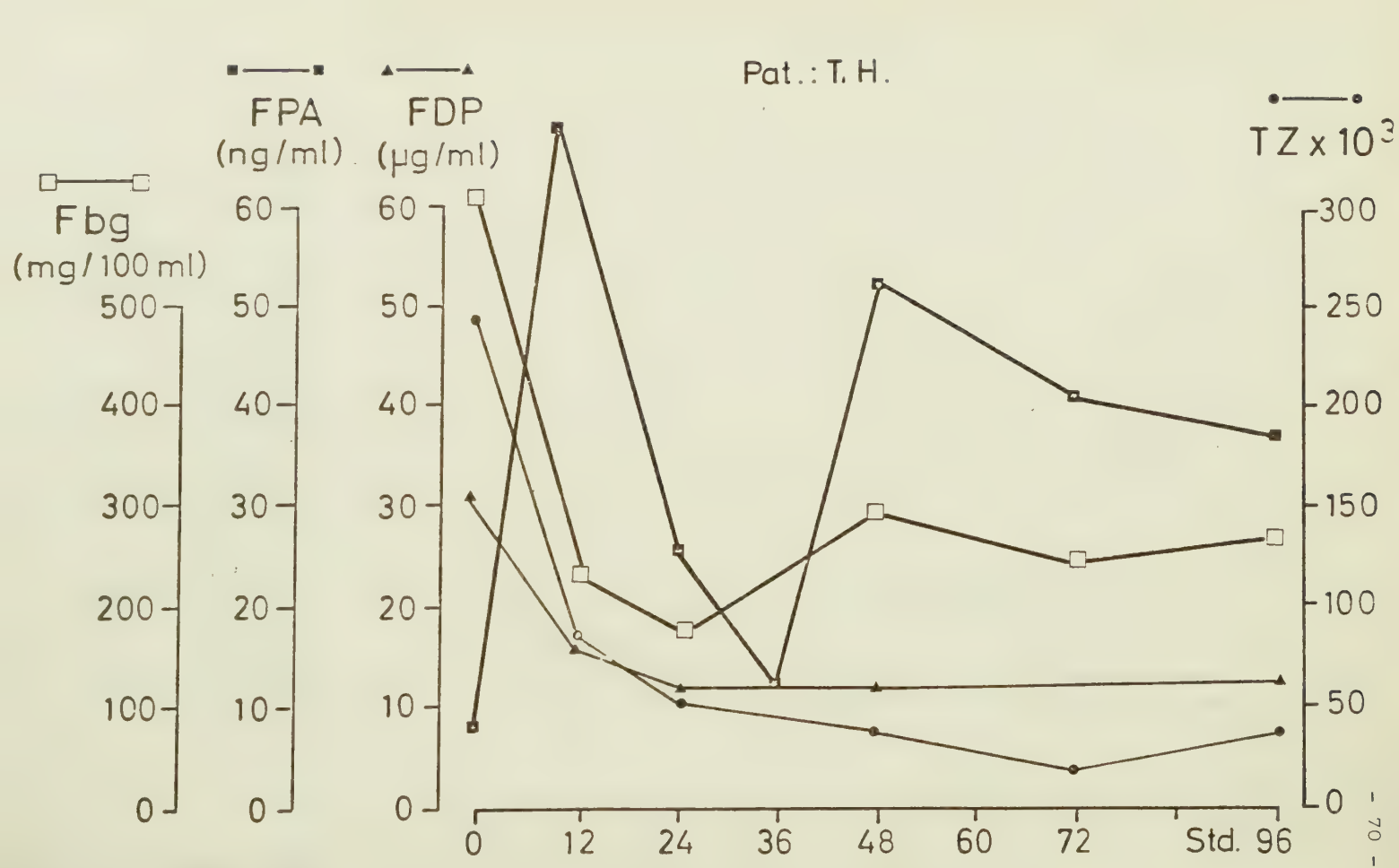

Pat.: T. H.
FPA
(ng/ml)
FDP
(µg/ml)
TZ x 10³
Fbg
(mg/100 ml)
500
400
300
200
100
0
60
50
40
30
20
10
0
60
50
40
30
20
10
0
300
250
200
150
100
50
0
0
12
24
36
48
60
72
Std. 96

Abb. 7.3.14

Abb. 7.3.14: Pat. Nr. 14, T. H., 17 Jahre, m, Glutealabszeß
Sepsisherd: Glutealabszeß, 3 Operationen
innerhalb von 4 Tagen.

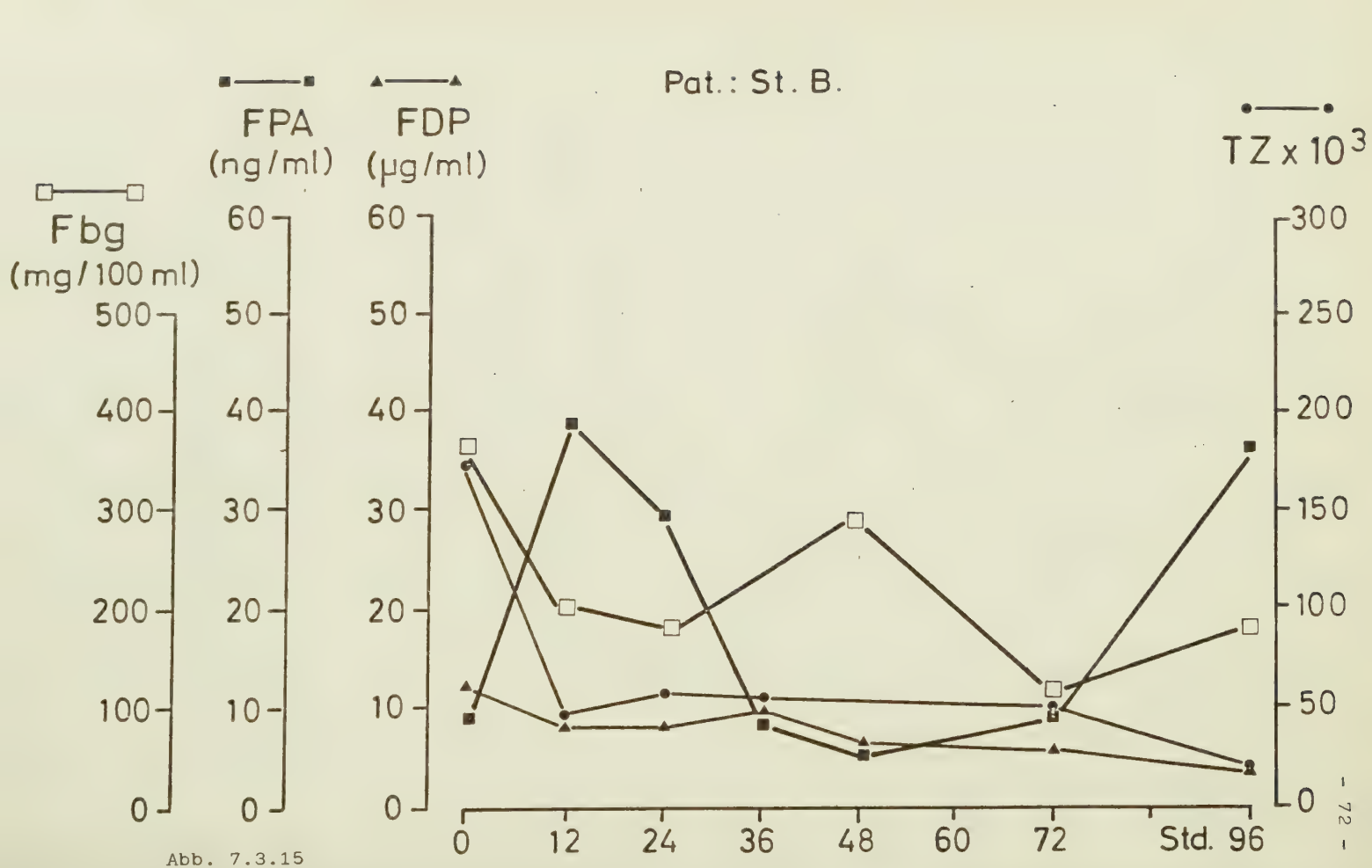

Pat.: St. B.
FPA
(ng/ml)
FDP
(µg/ml)
TZ x 10³
Fbg
(mg/100 ml)
500
400
300
200
100
0
60
50
40
30
20
10
0
300
250
200
150
100
50
0
0
12
24
36
48
60
72
Std. 96

Abb. 7.3.15

Abb. 7.3.15: Pat. Nr. 15, St. B., 48 Jahre, w, Collum-Ca., Rektum-Ca.
Sepsisherd: Peritonitis, Pneumonie. Die Patientin wurde innerhalb des Beobachtungszeitraumes einmal operiert. Sie verstarb 52 Tage nach Beginn der Schocksymptomatik. Die FPA-Werte sind während des gesamten Zeitraumes erhöht.

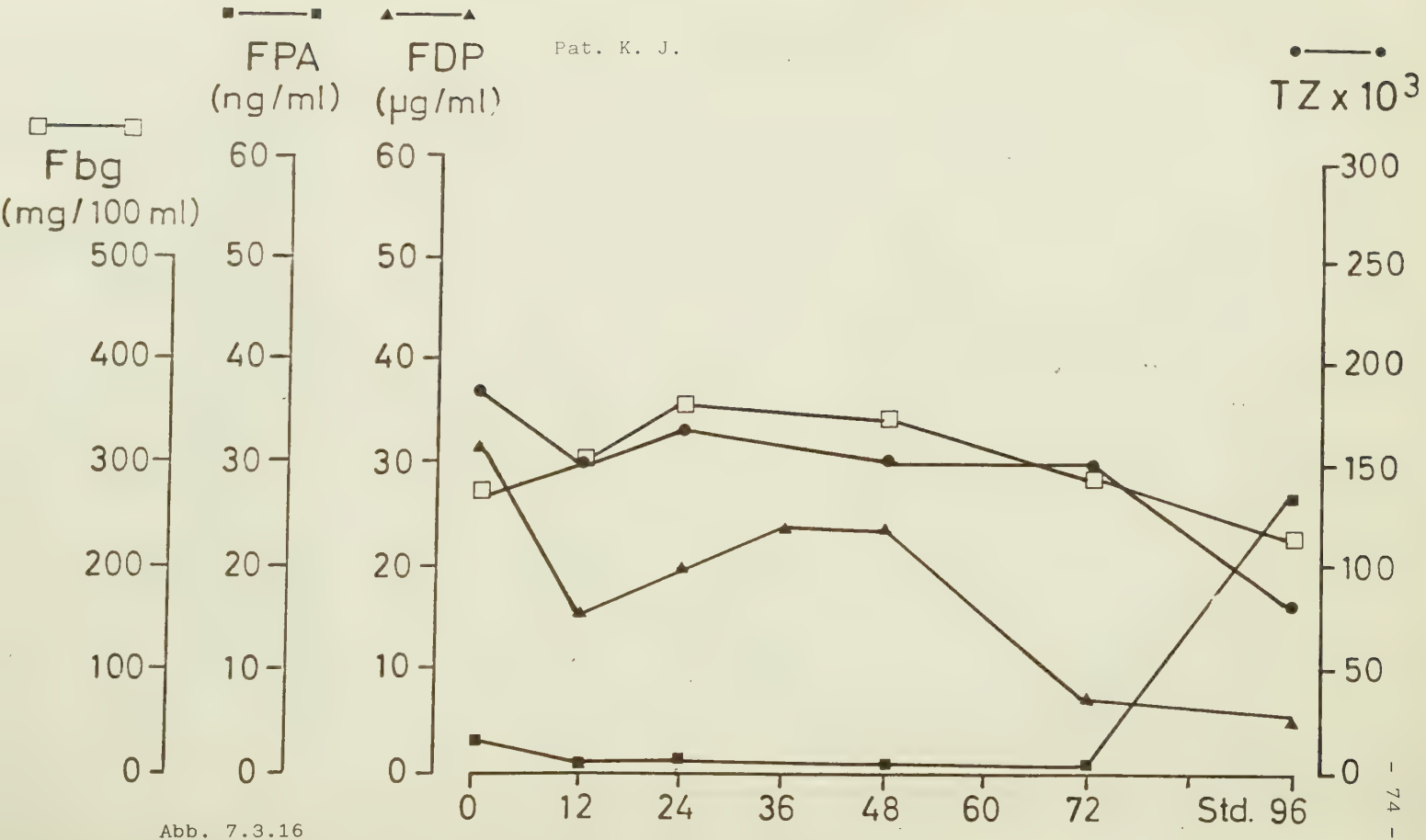

Pat. K. J.
FPA
(ng/ml)
FDP
(µg/ml)
TZ x 10³
Fbg
(mg/100 ml)
500
400
300
200
100
0
60
50
40
30
20
10
0
60
50
40
30
20
10
0
300
250
200
150
100
50
0
0
12
24
36
48
60
72
Std. 96

Abb. 7.3.16

Abb. 7.3.16: Pat. Nr. 16, K. J., 63 Jahre, m, abszedierende Cholangitis bei Pankreas-Carcinom.
Sepsisherd: Peritonitis, Pneumonie. Der Patient wurde in den 96 Stunden einmal operiert. Er verstarb 13 Tage später.

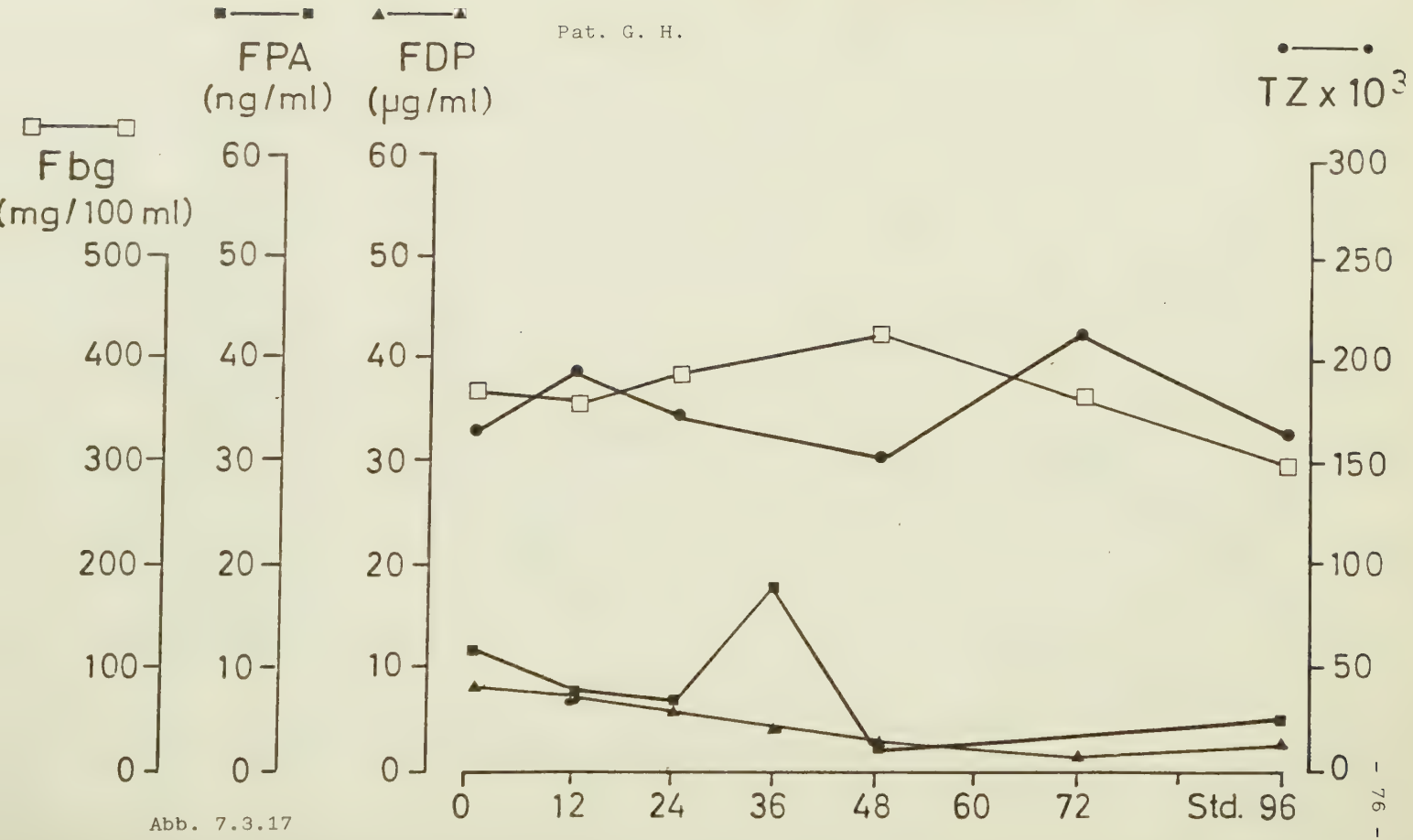

Pat. G. H.
FPA
(ng/ml)
FDP
(µg/ml)
TZ x 10³
Fbg
(mg/100 ml)
500
400
300
200
100
0
60
50
40
30
20
10
0
60
50
40
30
20
10
0
300
250
200
150
100
50
0
0
12
24
36
48
60
72
Std. 96

Abb. 7.3.17

Abb. 7.3.17: Pat. Nr. 17, G. H., 50 Jahre, m, Rektum-Carcinom-Rezidiv.
Sepsisherd: abszedierende Pneumonie. Der Patient verstarb 7 Tage nach Beginn des Schockes.

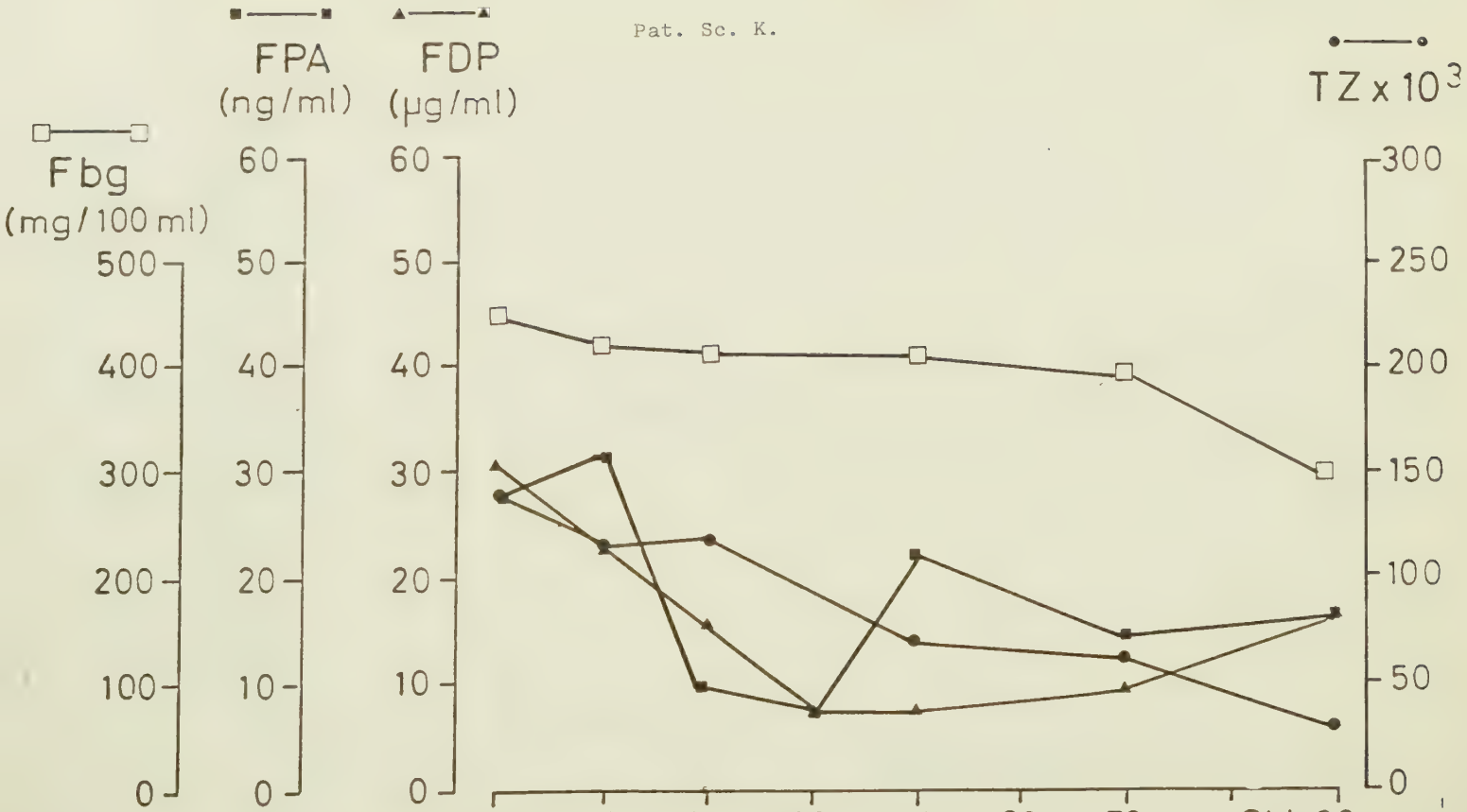

FPA
(ng/ml)
FDP
(µg/ml)
TZ x 10³
Fbg
(mg/100 ml)
500
400
300
200
100
0
60
50
40
30
20
10
0
300
250
200
150
100
50
0
0
12
24
36
48
60
72
Std. 96

Abb. 7.3.18

Abb. 7.3.18: Pat. Nr. 18, Sc. K., 53 Jahre, m, villöses Rektum-Adenom
Sepsisherd: Peritonitis (Abzeß). Der Patient verstarb 10 Tage nach Beginn des Schockes.

Verlauf von Antithrombin III-u. Fibrinopeptid -A- Spiegel bei 18 Pat. im hyperdynamen, septischen Schock ($\bar{x}$ SEM)

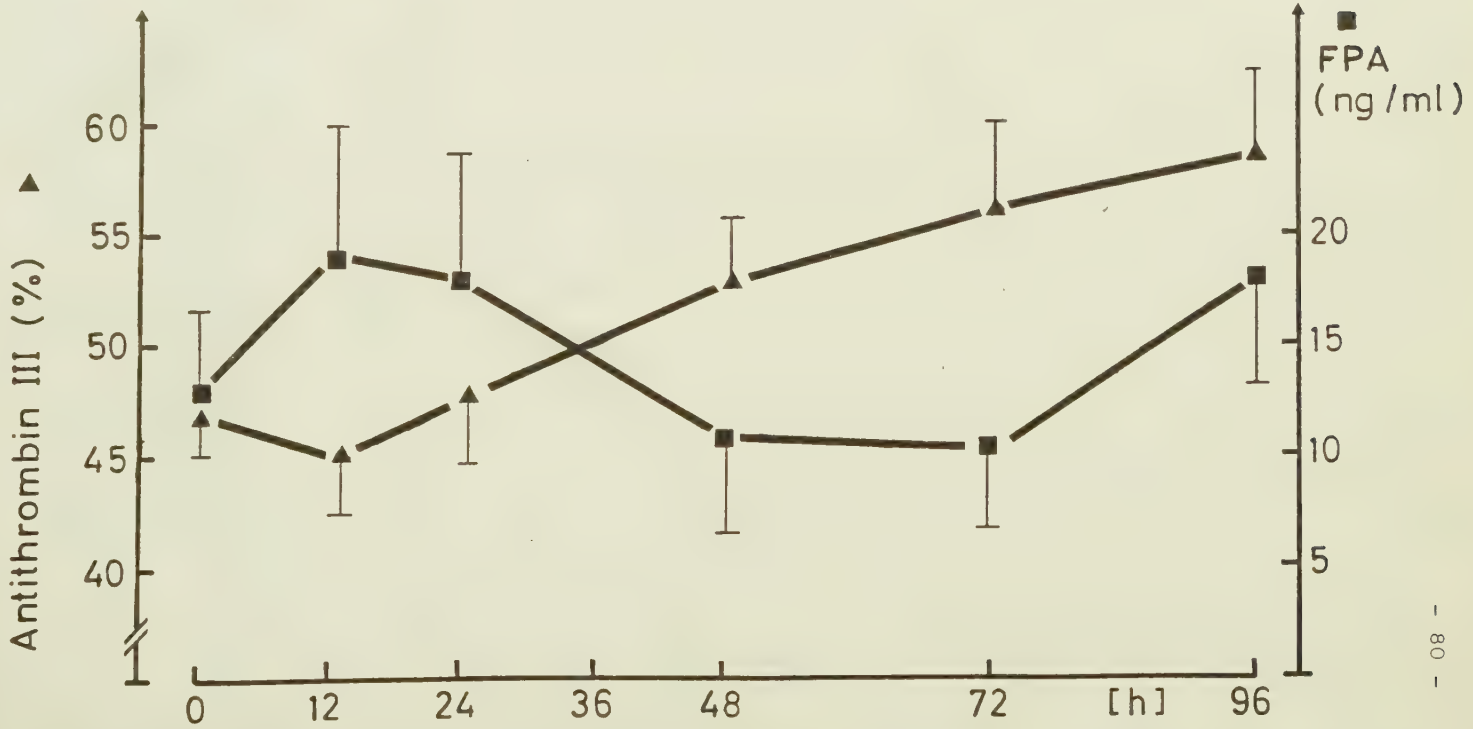


Abb. 7.3.19

7.4. Drei weitere Patienten mit Verbrauchskoagulopathie

- Pat. S. A.: geb.: 18.04.47, w.
Eklampsie und Zn. Zwillingsgeburt. Schwerste hämorrhagische Diathese, Verbrauchskoagulopathie, schwere Hämolyse (Fruchtwasserembolie?), akutes Nierenversagen, respiratorische Insuffizienz, cerebrale Blutung und intravitaler Hirntod. Heparin 400 IE/h.

Absolutwerte: Datum	24.5.	25.5.	26.5	27.5.	29.5.	30.5.	3.6.
FPA ng/ml		45,2					
Quick %	47	62	89	97	89	83	
Thr.zeit	17,8	15,3	12,2	11,7	10,2	11,4	
Thromboz.	14300	24200	27500	63800	74800	151800	
Fibrinog.	270	240	240	335	430	335	
Godaltest	+	ø	ø	(+)	ø	ø	

- Patient E. C.: geb.: 19.04.12, w.
histologisch gesichertes Adenokarzinom d. Cervix uteri, Scheiden-Rectum-Fistel. Multiple Hirnmetastasen. Akutes Nierenversagen. Hämodialyse. Sepsis mit Verbrauchskoagulopathie, pulmonelle Insuffizienz. 30.08.77 bis 03.09.77 maschinelle Beatmung. Lumbalpunktion am 04.09.: 69/3 Zellen, 112 mg % Eiweiß. Tod am 30.09.77. Heparin: 200 IE/h.

Absolutwerte: Datum	30.8.	31.8.	2.9.	3.9.	4.9.	5.9.
FPA ng/ml			33,6	11,8		
Quick %	49	65	64	55	59	58
Thr.zeit	15,8	14,2	15,5	41,9	14,4	13,3
Thromboz.	18700	13200	36300	76400	82500	134200
Fibrinog.	240	270	300	270	240	240
Godaltest			+	+	+	+
				250 ml Erytrhozyten-konzent		

- Pat. E. A.: geb.: 06.12.29, m.
  Stat. Aufnahme wegen spritzender Fundusvarizenblutungen am 21.4.77. Laserkoagulation. Portale Hypertension ohne Möglichkeit zur Shuntoperation. Dekompensierte Leberfunktion bei Leberzhirrhose, wahrscheinlich durch Alkohol bedingt. Zweimal Rezidivblutung und zweimalige Laserung. Linton-Nachlas-Sonde am 3.5.77, Prothrombinkonzentrat. Am 6.5. zusätzlich zu den oben genannten Faktoren 100 ml Vollblut und 500 ml Erythrozytenkonzentrat.

  Profuse intestinale und urogenitale Blutungen. Zunehmende Niereninsuffizienz im Rahmen eines hepatorenalen Syndroms. Urämie, Bronchopneumonie, Herzkreislaufversagen. Der Patient verstarb am 15.5.77.

Absolutwerte: Datum, Uhrzeit	8^{00} 6.5.77	15^{00}	17^{00}	8.5.77	8^{00} 9.5.77	18^{00}	19^{00}	10.5.
FPA ng/ml	141,8	326,4	23,2	8,8	18,6	8,8	6,8	6,0
Quick %	45	56		38	38			37
Thrombinzeit	13,0	12,9		16,4	14,8			12,2
Thrombozyten	81400	78100		69300	80300			10700
Fibrinogen	150	120		120	60			60
Godaltest	+	+		+	+			+

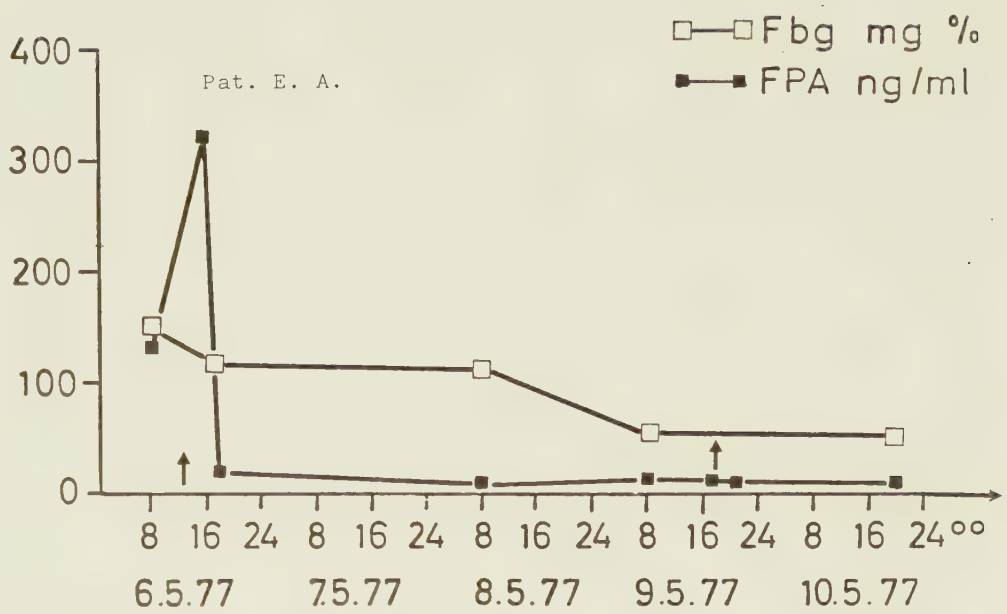


Abb. 7.4.1: 1250 IE Faktor VIII Konzentrat
2800 IE Prothrombinkomplex
5. Amp. Antithrombin III
1000 IE Prothrombinkomplex
6 Amp. Trasylol

Abb. 7.4.1: Pat. E. A., 48 Jahre, siehe Seite 82

7.5. Patienten mit Nierenkarzinom

7.5.1. Einzelwerte

Name	Geburtsdatum	Geschlecht	FPA ng/ml	$\bar{x}$
Z.J.		m	39,2	
N.H.	29.03.21	m	4,2-5,6-39,6	16,5
K.M.	7.04.29	w	15,0	
H.J.	15.06.99	m	25,6	
L.J.	13.01.29	m	2,9	
M.H.	4.02.14	w	6,6	
M.F.	19.04.03	m	3.5	
J.J.	22.01.01	m	5,6	
Z.O.	11.12.36	m	3,6-2,9	3,2
Ö.C.	1.10.22	w	5,6-14,0	9.8
B.A.	8.02.03	m	5,0	
H.E.	18.01.26	m	3,8-4,5-3,6-1,4	3,3
S.J.	13.10.07	m	16,0-3,6-4,6-8,2	8,1
S.P.	29.08.31	m	2,2-3,3	2,7
G.T.	21,09.10	w	6,0 (siehe 7.4.2.)	
B.W.	04.02,07	m	0,4 (" ")	
E.S.	25.02.07	m	3,2 (" ")	
E.B.	11.11.90	w	9,5 (" ")	
T.G.	15.04.97	m	7,0 (" ")	
$\bar{x}$	(n = 19)	=	9,12	
Spannweite				
Minimum		=	0,4	
Maximum		=	39,2	

7.5.2. Verlauf der FPA-Konzentration und anderer Gerinnungsparameter bei Embolisationen inoperabler Nierenkarzinome (Absolutwerte)

Name und zu messender Parameter	vor Embolisation	nach	1. Tag post OP	2. Tag	3. Tag	4. Tag
G.T.						
FPA in ng/ml	6,0		18,6		7,6	
Quick %	47					
Thrombinzeit	13,3					
PTT sec	55,7					
Hitzefibrinogen	625					
B.W.						
FPA ng/ml	0,4		11,6		5,5	
Quick %			89		10	
Thrombinzeit			10,3		13,8	
Hitzefibrinogen			300		370	
E.S						
FPA ng/ml	3,2	>50	9,6	7,4		
Quick %	72		100	100		
Thrombinzeit	12,3		13,2	10,5		
Hitzefibrinogen	430		500	625		
E.B						
FPA ng/ml	9,5	46	18,0	9,5	9,5	
Quick %	100	37	76	78	70	
Thrombinzeit	15,6	2'17"	21,6	14	24,8	
PTT sec	39,5		41,1			
Hitzefibrinogen	560	530	625	625	625	
T.G.						
FPA ng/ml	7,0	25,0				8,6
Quick %	60	60	73			67
Thrombinzeit	14,3	13,4	12,4			13,8
PTT sec	37,2	44,7	71,2			61,6
Hitzefibrinogen	335	370	430			625
FPA ng/ml $\bar{x}$	5,2	40,3	14,5	8,5	7,5	
Spannweite						
Minimum:	0,4	25	9,6	7,4	5,5	
Maximum:	9,5	50	18,6	9,5	9,5	

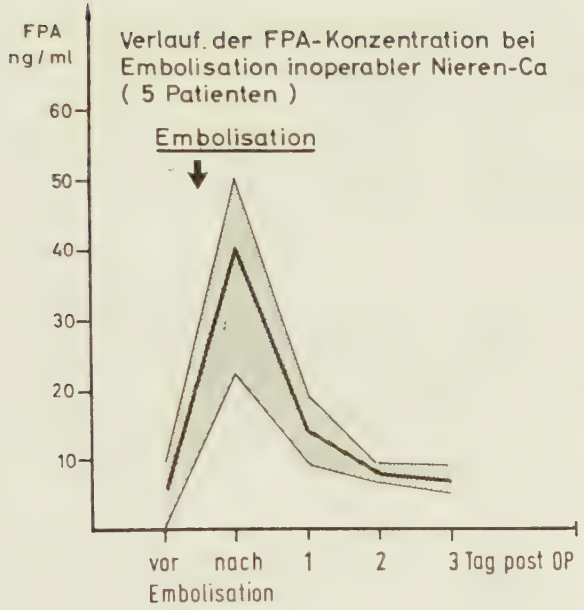

FPA
ng / ml
Verlauf der FPA-Konzentration bei
Embolisation inoperabler Nieren-Ca
(5 Patienten)
Embolisation
60
50
40
30
20
10
vor
Embolisation
nach
1
2
3 Tag post OP

Abb. 7.5.2.1

7.6. Patienten mit arteriellen und venösen Gefäßverschlüssen

7.6.1. Einzelwerte:

Name	N.H.	K.U.
Untersuchungsdatum	3.6.77	23.5.77
FPA ng/ml	3,6	0,4
Quick	17	76
Thrombinzeit sec	12,5	11,2
Thrombozyten x 10^3	205,7	543,4
Fibrinogen mg/100 ml	170	430
PTT sec		35,5

Patient N.H. (geb.: 10.8.45, w., 95 kg bei 165 cm Größe) klagte über stenokardiale Beschwerden, ohne daß ein Anhalt für eine koronare Herzkrankheit vorlag. Thrombose der V. femoralis und der V. iliaca rechts. Zustand nach Implantation eines Vena cava Filters. Verdacht auf rezidivierende Lungenembolien.

Patient K.U. (geb.: 17.8.23, w.) 11 Tage vor der FPA-Bestimmung bildete sich zwei Tage nach einer Herzkatheteruntersuchung ein Thrombus in der Arteria femoralis. 1974 erlitt sie einen Hinterwandinfarkt. Seit dieser Zeit wurde sie marcumarisiert. Am Tag der FPA-Bestimmung bekam sie zweimal 12500 Einheiten Calciparin.

7.6.2. Verläufe:

Patient O.H. (geb.: 31.7.39 m.) Hereditärer Antithrombin-III-Mangel. Milzvenenthrombose. Posthrombotisches Syndrom an beiden Beinen mit Ulcera crures. Wiederholt Lungenembolien. Oberflächliche Thrombophlebitiden. An der lateralen Bauchwand beidseits deutlich sichtbare venöse Umgehungskreisläufe. Der Patient war seit 1974 marcumarisiert.

Einzelwerte siehe S. 89

Fortsetzung S. 88, Pat. O.H.

Datum	14.4.77	15.4	16.4.	19.4.	21.4.	22.4.
FPA ng/ml	1,8	0,2	3,7	4,0	3,7	4,2
Quick %	24	22	24	24	24	32
Thrombinzeit wec	10,8	11,0	12,0	11,6	12,2	10,2
Thrombozyten x 10^3	61,6	50,6	53,9	57,2	59,4	48,4
Fibrinogen mg/100 ml	300	300	240	240	270	240
Ptt sec	64,2	70,1	53,5	59,3	68,6	56,2
Godaltest	ø	ø	ø	ø	ø	ø

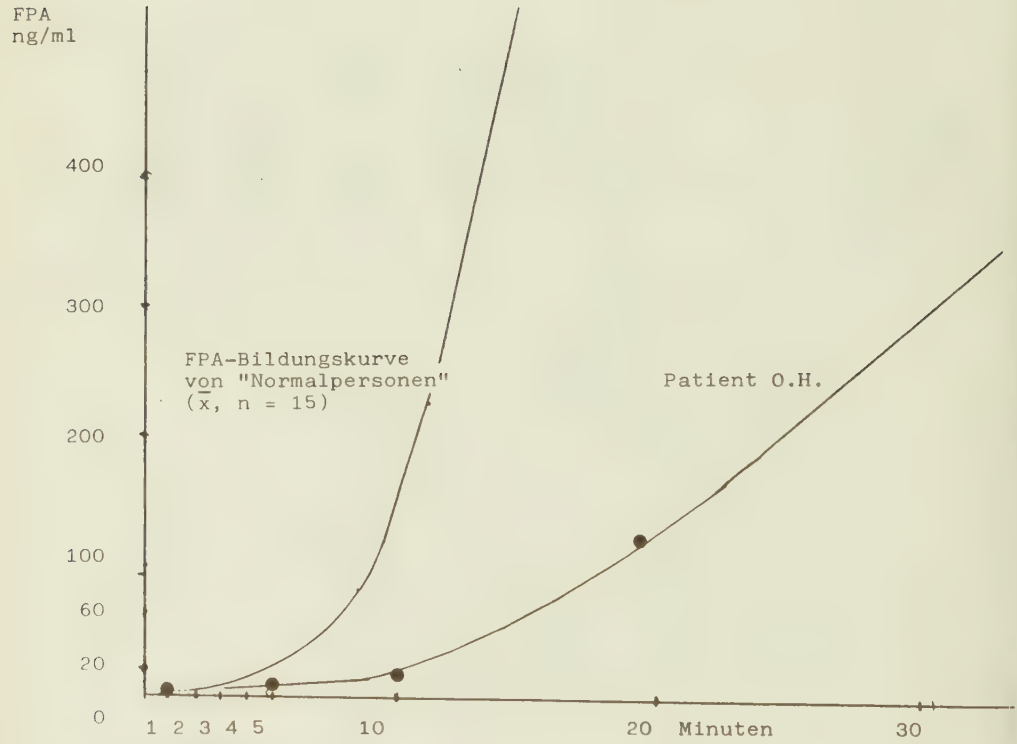


Abb. 7.6.2.1: Patient O.H.: geb.: 31.7.39, m.
FPA-Bildungskurve (Absolutwerte: 0 min = 3,6 -
1 min = 4,8 - 5 min = 11,6 - 10 min = 11,2 -
20 min = 128 - 40 min = 408 -). Der Patient
leidet an einem hereditären Antithrombin-III-
Mangel. Er wird mit Phenprocoumon (Markumar®)
behandelt. Sein Quickwert zur Zeit der FPA-
Bestimmung am 16.02.78 war 20 %.

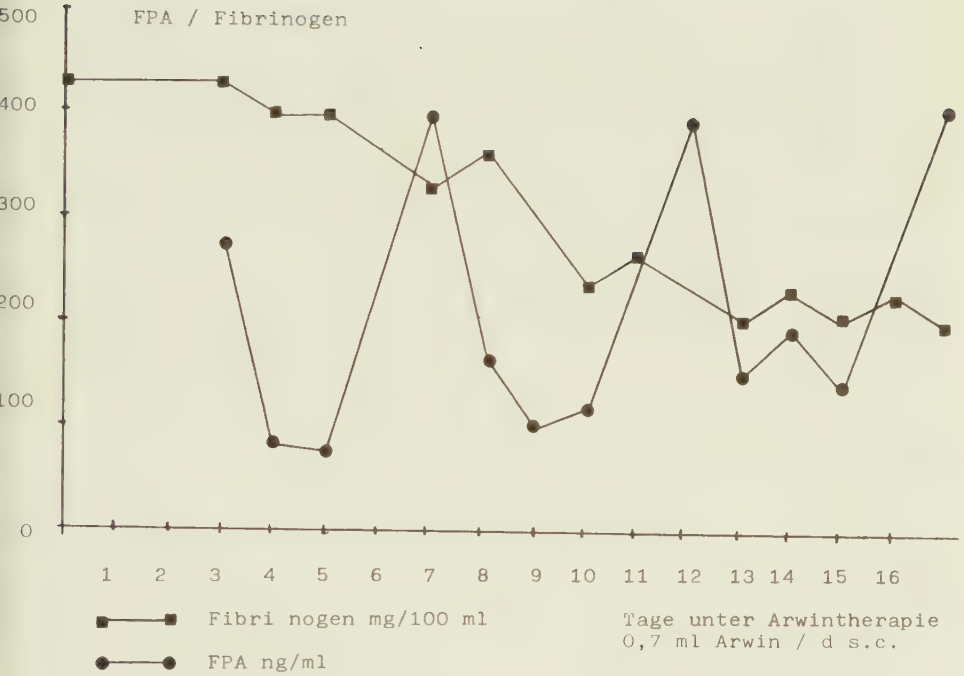


Abb. 7.6.2.2: Patient N.: geb. 13.06.02, m. Generalisierte Gefäßsklerose. Absolute Arrhythmie. Zustand nach Schrittmacherimplantation. Iliaca-externa-Verschluß links. Beidseits Verschluß der Arteria femoralis superficialis sowie der Arteria profunda links. Grad III - IV linkes Bein. Grad II rechtes Bein. Vom 17.9.77 (Tag I) bis 31.9.77 (Tag 15) 0,7 ml Arwin pro die s.c.

Absolutwerte siehe S. 92

Fortsetzung S. 91, Patient N.

Absolutwerte:

Tage unter Arwin	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
FPA			273	83	73		400	169	100	118	
Fibrinogen	430		430	400	400	370	335	370		240	270

Tage	12	13	14	15	16	17
FPA	400	149	100	137		>400
Fibrinogen	240	210	240	210	240	210

FPA während Streptokinasetherapie, siehe Abb. 7.6.2.3, S. 94

Patient R. K.: geb.: 05.10.44, m.
Vollkommener Verschluß der V. subclavia rechts, etwas medial der Clavicula beginnend. (Phlebographie am 12.05.77). Trotz Streptonkinasetherapie Progredienz der Thrombusentwicklung bis zum Abgang der großen Kollateralen-Stämme (Phlebographie am 27.05.77). Gute Kollateralentwicklung.

Absolutwerte:							
Datum	11.5.		12.5.				17.5.
Uhrzeit	18^{00}	22^{30}	8^{00}	9^{00}	12^{00}	16^{00}	
FPA ng/ml	4,6	260	110	160	105	96	26,2
Quick %	80	12	26		26	25	29
Thrombinzeit sec	11,8	11,3	26		20,4	19,9	17,8
Thrombozyten x 10^3	254,1	211,2	218,9				212,3
Fibrinogen mg/100ml	240	20	60		50	60	60
Godaltest	+	ø	ø				ø
Reptilasezeit sec	11,5	>2'	49,8		48,1	42,2	22,0

FPA während Streptokinasetherapie

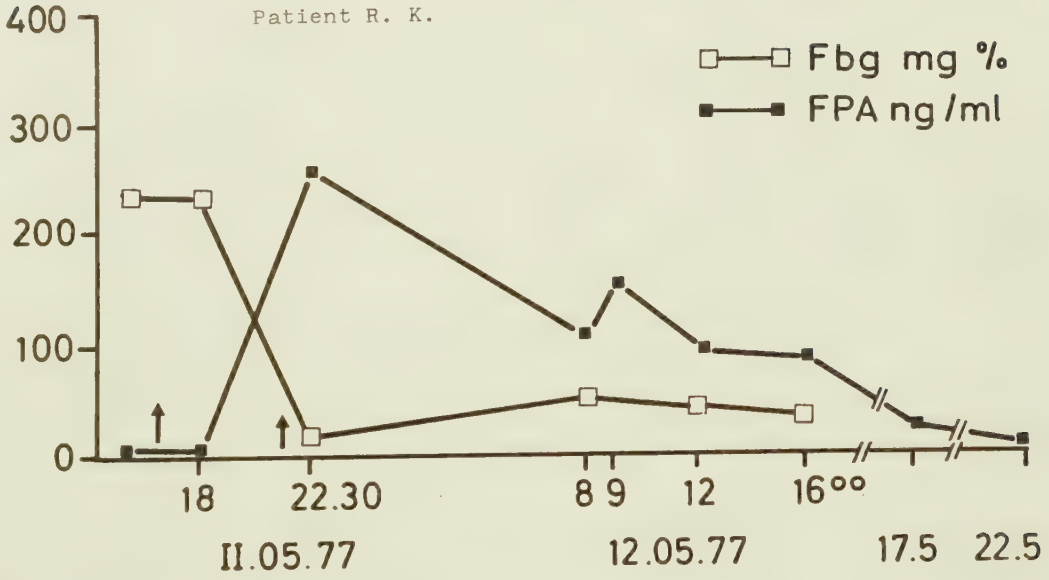


Abb. 7.6.2.3

Abb. 7.6.2.3.: Patient R. K. 15^{00}: 250 000 IE Streptokinase/h, ab 15^{25}: 100 000 pro Stunde insgesamt 1,5 Mill. IE Streptokinase, 21^{00}: 1,5 Mill. IE Streptokinase/h.

7.7. Patienten mit Hämophilie

7.7.1. Fibrinopeptid-A-Bildungskurven bei Patienten mit Hämophilie (Hämophilie A und B, Hemmkörperhämophilie - Methodik siehe 4.2.). Ohne Substitution

Nr.	Absolutwerte: Name und Diagnose	FPA-Konzentration (ng/ml) nach einer Gerinnungszeit von 0	2	4	6	10	20	30	40 min.
1	D. Hämophilie A VIII 1 %		2,2		3,0	3,1	3,1	6,2	Drost
2	Dr. Hämophilie A VIII = 1 %		2,0		2,7	2,3	2,6	7,4	Drost
3	S. Hämophilie A VIII = 2 - 4 %		0,6		2,2	1,5	4,2	5,6	Drost
4	B. Hämophilie A VIII 1 %	2,1		3,1	3,4	2,8	2,7	5,1	
5	W. Hämophilie B	13,4		12,6	13,8	14,9	26,8	26,8	
6	H. Hämophilie B			4,0	2,4	3,7	15,0	22,7	
7	J. Hämophilie A VIII 1 %	1,3		1,7	1,7	2,5	2,8	2,9	4,8
8	B.H. Hämophilie A VIII 1 %	3,3		3,1	3,2	4,8	4,3	46,6	
9	K. Hämophilie A VIII 1 %	0,6		2,2	2,3	2,6	4,4	22,3	
10	H.A. Hämophilie A VIII = 9 %	8,7			9,2	11,8	35,4	128,0	
11	M.E. Hämophilie A VIII 1 %	1,6			1,8	2,8	5,2	24,7	48,6
12	H.M. Angiohämo. A, VIII 1 %	2,1			4,4	6,1	9,7	22,7	50,2
	$\bar{x}$ bei allen Patienten mit Hämophilie A, Faktor VIII = 1 %.	2,23	2,1	2,8	2,59	2,99	3,59	16,46	26,7
	Standardabweichung:								
	Spannweite Minimum:	0,6	2,0	2,2	1,7	2,3	2,6	2,9	4,8
	Maximum:	3,3	2,2	3,1	3,4	4,8	5,2	46,6	48,6

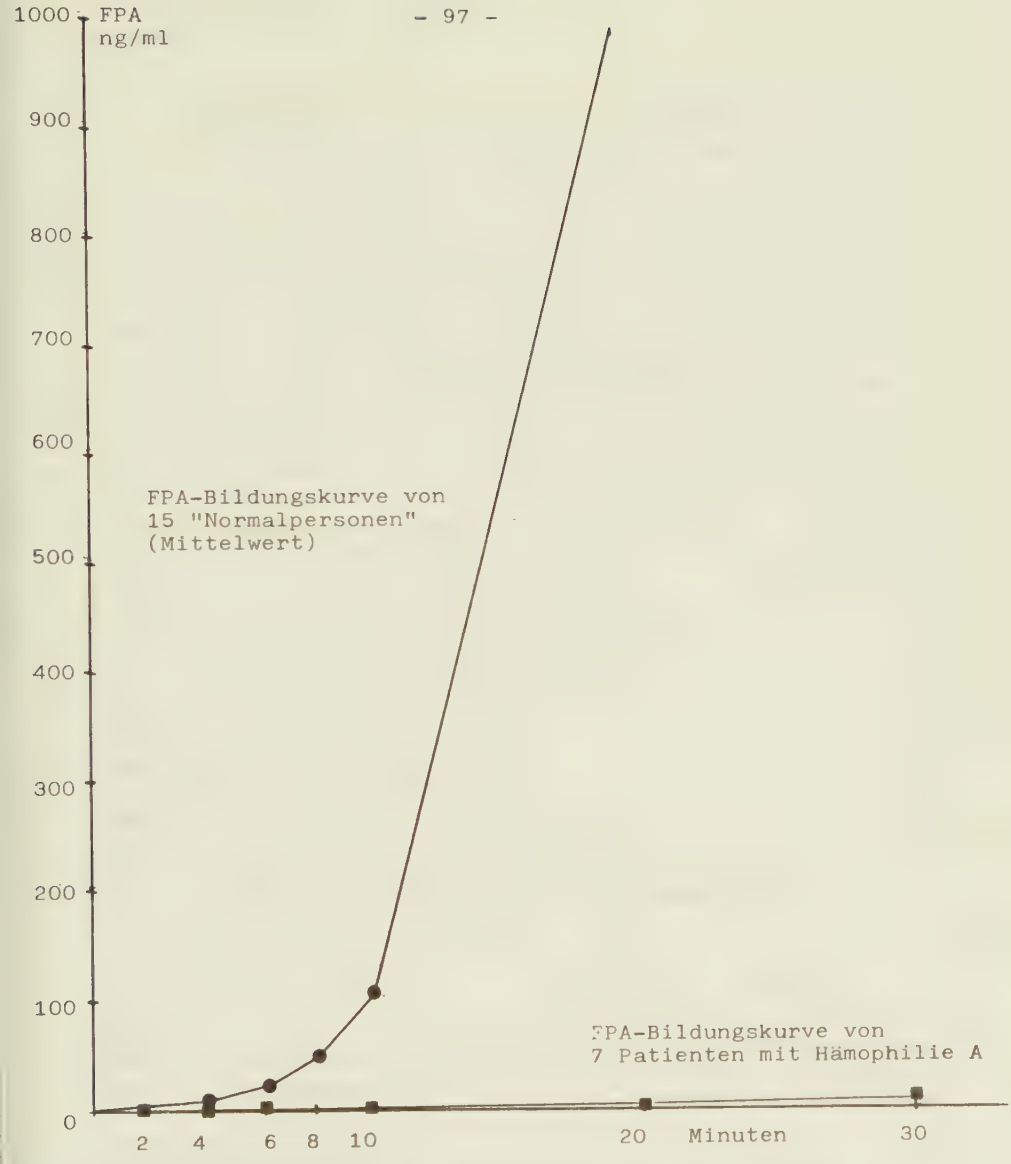


Abb. 7.7.1.1: Vergleich der FPA-Bildungskurven (Mittelwerte) von "Normalpersonen" (n = 10) und Patienten mit Hämophilie A, Faktor VIII = 1 % (n = 7)

Absolutwerte ($\bar{x}$):	0 min	2 min	4 min	6 min	8 min	10 min	20 min	30 min
Normalpersonen:	3,2	7,6	11,4	25	45,3	112,5	1021,6	
Hämophile:	2,2	2,1	2,8	2,6		2,9	3,6	16,4

7.7.2 FPA-Bildungskurven von Patienten mit Hämophilie B vor und nach Substitution

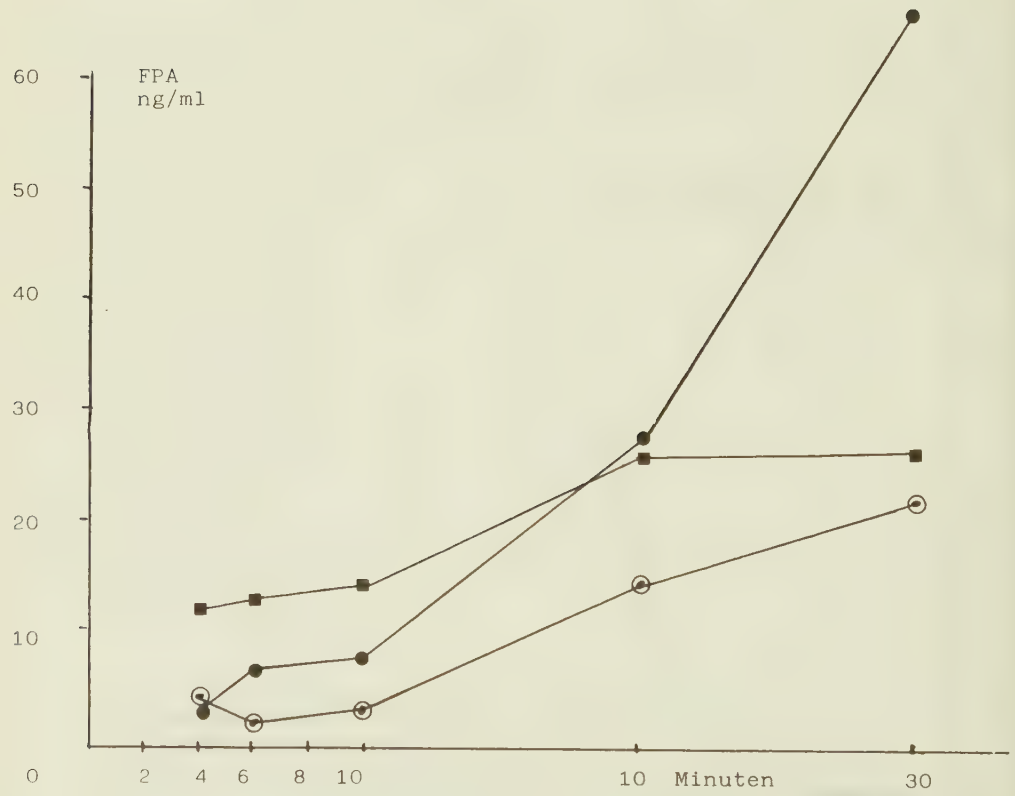


Abb. 7.7.2.1: Pat. W. G. Hämophilie B, vor Substitution
Pat. W. G. nach Substitution
Pat. H. W. Hämophilie B

Absolutwerte von S. 98

Absolutwerte:

Name	FPA-Konzentration nach einer Gerinnungszeit von 0	4	6	10	20	30 Minuten
H.W.		4,0	2,4	3,7	15,0	22,7
W.G. vor Subst.	13,4	12,6	13,8	14,9	26,8	26,8
W.G. nach Subst.		3,0	7,2	8,3	27.4	66,8

7.7.3 FPA-Bildungskurven von Patienten mit Hemmkörperhämophilie, vor und nach Substitution mit FREIBA (Fraktion FREIBA Human Imuno)

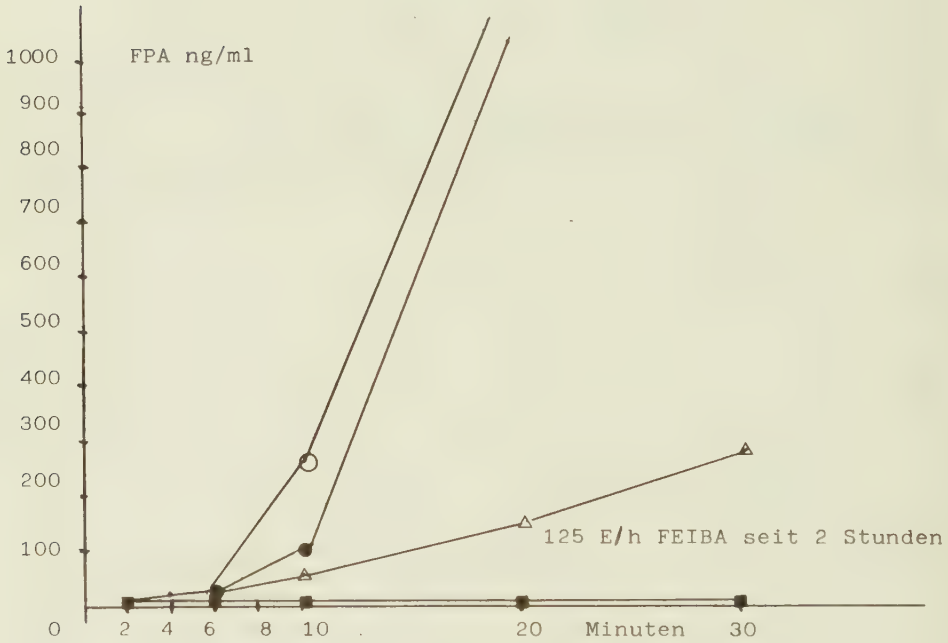


Abb. 7.7.3.1:

- FPA-Bildungskurve von Normalpersonen
- FPA-Bildungskurve von Pat. G.J. am 15.6.78 ohne Substitution
- FPA-Bildungskurve von Pat. G. J. am 15.6.78 mit Substitution von 125 E/h F EIBA 2 h nach Beginn der Substitution
- FPA-Bildungskurve von Pat. G. J. nach Substitution von F EIBA am 31.5.79

Absolutwerte zu Abb. 7.7.3.1

Absolutwerte:	0 min	2 min	5 min	6 min	10 min	20 min	30m.
15.6. ohne S.		6,2		7,6	9,8	12,2	16,0
15.6. mit S.		13,0		28,7	57,0	157,8	290,8
31.5. mit S.	7,5		34,7		271,0	1284,	1284,0
21.5. ohne S.	3,3		3,0		3,4	13,0	66,6
6.6.79 vor S.	2,9		3,0		7,1	23'7 11,4	54,6
6.6. nach S.	5,3		37,1(7')		171,3	(13')1040,8	1600,0
6.6. 4 h später	2,7				6,1	15,3	129,3

Patient G. J.: geb.: 21.10.56 Hämophilie A. Hemmkörperbildung auf Grund von AHG Substitution

Datum	13.9.77 vor	13.9.77 nach 3000 E FEIBA	17.9.77 vor	17.9.77 nach 2500 E FEIBA
FPA ng/ml	5,7	8,6	3,1	4,6
Quick %	67	100	74	100
Thrombinzeit sec	13,8	11,1	12,6	13,9
Fibrinogen mg/100 ml	370	430	370	270
PTT sec	107,6	87,3	94	82,2

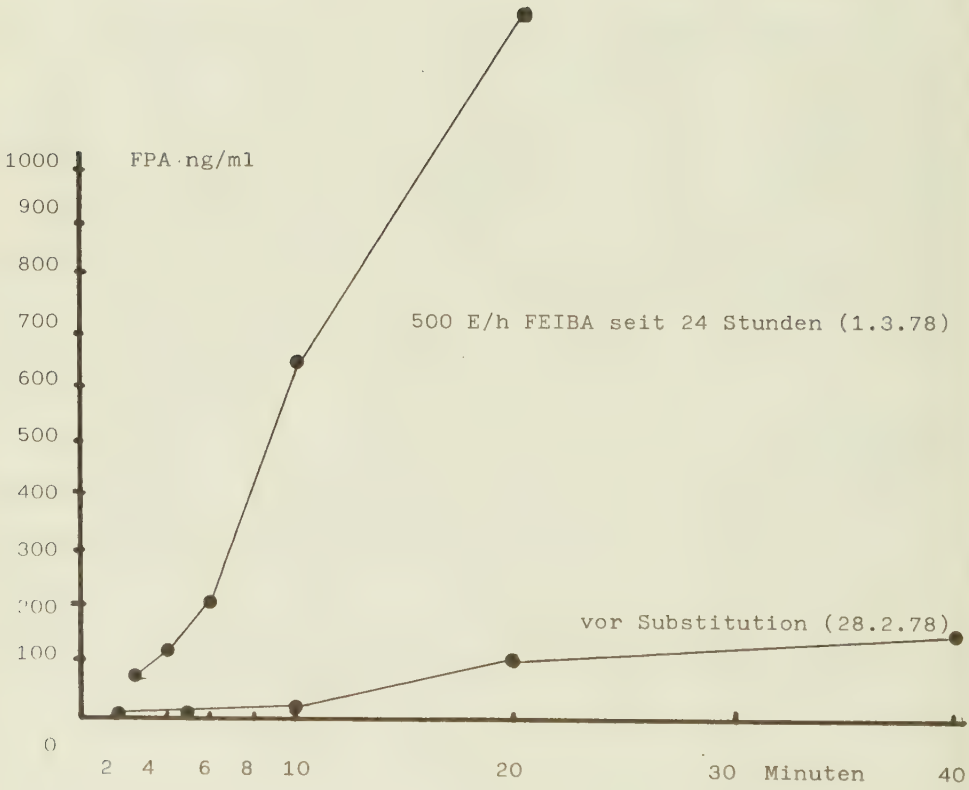


Abb. 7.7.3.2: Patient R. F.: geb.: 16.10.48, m.
Schon seit dem 6. Lebensjahr ist eine Hämophilie A bekannt. Wegen zahlreicher Blutungen hat der Patient mindestens 400 Blutkonserven bekommen. Hämolytische Anämie im Rahmen eines Hypersplenismus bei Hämosiderose. Verdacht auf Leberzirrhose, kleinkalibrige Choletithiasis. Hemmkörperhämophilie.

Absolutwerte zu Abb. 7.7.3.2

Absolutwerte:		
vor FEIBA-Substitution:	2 min =	9,6 ng/ml
	5 min =	10 ng/ml
	10 min =	20,4 ng/ml
	20 min =	105 ng/ml
	40 min =	160 ng/ml
seit 24 h 500 E/h FEIBA	3 min =	77,6 ng/ml
	4 min =	113,6 ng/ml
	6 min =	224 ng/ml
	10 min =	638 ng/ml
	20 min =	1280 ng/ml

am 1.3.78: FPA 9,2 ng/ml - Quick 89 % - Thrombinzeit 12,3 sec - Thrombozyten 167200 - Fibrinogen 300 mg / 100 ml - PTT 105,6 sec - Godaltest negativ.

D)

8. Diskussion der Ergebnisse

8.1 Normalkollektiv (siehe 7.2.)

8.1.1. Einzelwerte

Der Mittelwert der Fibrinopeptid-A-Plasmakonzentration lag bei 96 untersuchten klinischen "Normalpersonen" (N.P.) bei 1,3 ng/ml. (Standardabweichung: $s = \pm 0{,}81$ ng/ml
Spannweite: 0,4 ng/ml bis 4,8 ng/ml, Drost 1980 (13).
Wir legten den oberen Normbereich auf 3 ng/ml fest (Schramm et al. 1980) (49)

Folgende Normbereiche für die FPA-Konzentration im Plasma von gesunden Personen sind veröffentlich worden:

- $\bar{x}$ = 0,5 ng/ml bei 30 N.P. Nossel et al. 1974 (41)
- $\bar{x}$ = 1,4 ng/ml bei 37 N.P. Gerrits 1974 (17)
- $\bar{x}$ = 0,64 ng/ml bei 36 N.P. Nossel 1976 (42)
- $\bar{x}$ = 0,5 ng/ml bei 36 N.P. Kockum 1976 (27)
- $\bar{x}$ = 0,9 ng/ml bei 20 N.P. Cronlund 1976 (11)
- $\bar{x}$ = 1,01 ng/ml bei 24 N.P. Hofmann, Straub 1977 (22)
- $\bar{x}$ = 1,8 ng/ml bei 22 N.P. Harenberg 1979 (21)
- $\bar{x}$ = 0,6 ng/ml bei 86 N.P. Nossel, Yudelmann 1978 (35)
- $\bar{x} < 0{,}5$ ng/ml Spannweite : < 0,5 bis 1,7 ng/ml Johnsson 1979 (26)

Unsere Ergebnisse passen somit in den von anderen Autoren genannten Bereich.

8.1.2. Fibrinopeptid-A-"Bildungskurven" von "Normalpersonen"

Wegen der kurzen Halbwertszeit des Fibrinopeptids A im Plasma von drei bis fünf Minuten (Nossel et al. 1974) (41) ist die Interpretation von Einzelwerten schwierig. Wir bestimmten deshalb die FPA-Bildung in vitro in definierten Zeitabständen als Parameter für die Koagulabilität der untersuchten Blutprobe. Es werden somit die Wirkungen des in vitro neu entstehenden und aktiven Thrombins unter den gegebenen und genormten Bedingungen gemessen. Im November 1976 veröffentlichten Nossel et al. (42) ein ähnliches Verfahren. Er bestimmte allerdings nur die FPA-Konzentration nach einer, zwei, drei und vier Minuten. Den steil ansteigenden zweiten Teil der FPA-Bildungskurve, der genauere Aussagen über das vorhandene Koagulabilitätspotential zuläßt, hat er nicht erprobt.

Wichtig für das Erstellen einer FPA-Bildungskurve sind genau definierte reproduzierte Blutabnahme- und Verarbeitungsbedingungen. Von insgesamt 15 Normalpersonen bestimmten wir die FPA-Bildungskurven. Bei 5 Proben erstellten wir die FPA-Bildungskurve so, daß die Reagenzgläser nach der Blutabnahme permanent auf einem mechanischen"Reagenzglas-Rollenmischer" bewegt wurden. Im Vergleich zu 10 anderen Proben, die nach der Blutabnahme so wenig wie möglich bewegt wurden, zeigt sich bei den 10 und 20-Minuten-Werten der "bewegten Gruppe" ein durchschnittliche höherer FPA-Wert. Da aber dieses Verfahren mit dem "Rollenmischer" in den verschiedenen Labors sehr schwer standardisiert zu übertragen ist, empfehlen wir das einfachere Verfahren des Stehenlassens der Blutprobe zur Erstellung einer FPA-Bildungskurve. So kann eine bessere Reproduzierbarkeit erreicht werden.

8.2. Patienten mit Verbrauchskoagulopathien

Bei den 18 Patienten im hyperdynamen septischen Schock, deren FPA-Spiegel über 4 Tage kontrolliert wurden, lagen die Mittelwerte beim Beginn der Messungen (Stunde 0) bei 13,0 ng/ml, nach 12 Stunden im hyperdynamen septischen Schock bei 18,3 ng/ml, nach 24 Stunden bei 17,3 ng/ml, nach 36 Stunden bei 13,2 ng/ml, nach 36 Stunden bei 13,2 ng/ml, nach 48 Stunden bei 10,4 ng/ml, nach 72 Stunden bei 10,5 ng/ml und nach 96 Stunden bei 17,9 ng/ml. Beachtenswert ist die große Spannweite der FPA-Konzentration, die bei den einzelnen Patienten einen Differenzbetrag von bis zu 75 ng/ml ausmachte. Trotz Steroidgabe und Antikoagulation veränderte sich innerhalb des viertägigen Beobachtungszeitraumes die erhöhte FPA-Plasmakonzentration nicht signifikant. Hofmann und Straub (22) wiesen 1977 darauf hin, daß ein erhöhter FPA-Spiegel nach 5000 Einheiten Heparin i.v. in kurzer Zeit sich normalisierte. Nossel et al. (41) veröffentlichten 1974 und 1978 (55) ähnliche Ergebnisse. Diese Feststellung ist bei der Interpretation bei diesem Patientengut und bei anderen Patienten mit Verbrauchskoagulopathien oder thrombembolischen Komplikationen mit zu berücksichtigen, weil diese Patienten zum Zeitpunkt der Blutentnahme für die FPA-Bestimmung meist mit Heparin schon vorbehandelt sind. Die beschriebenen Patienten mit hämodynamisch, mikrobiologisch und labormäßig gesichertem septischen Schock erhielten 200 bis 400 E/h Heparin mittels einer Perfuserpumpe.

Signifikante Korrelationen zu den anderen Gerinnungsparametern konnten von den FPA-Konzentrationen aus nicht festgestellt werden. Die durchschnittlichen Thrombinzeiten lagen im Bereich der Norm. Der durchschnittliche

Quickindex variierte während des Beobachtungszeitraumes zwischen 53,1 % und 64,7%. Ein starker Fibrinogenabfall war während dieser Umsatzstörungen nicht zu erkennen. Die Konzentration der Fibrinspaltprodukte als ein Maß für die Aktivierung der Fibrinolyse war leicht erhöht.

Da sich die klinische Situation bei den einzelnen Patienten nicht einheitlich entwickelte, können demzufolge keine gleichartigen Verläufe der FPA-Konzentrationen erwartet werden. Die permanent erhöhten durchschnittlichen FPA-Konzentrationen während des Beobachtungszeitraumes lassen den Schluß zu, daß fortwährend eine starke Gerinnungsaktivierung stattfand. Daß trotz der Heparinisierung hohe FPA-Spiegel bestanden, läßt den Schluß zu, daß eventuell Plasmin und andere Proteasen (Kollagenase, Elastase ...) vom Fibrinogenmolekül Peptide abspalten, die FPA enthalten.

Während bei den 18 Patienten der "Sepsis-Serie" man von einer kompensierten intravasalen Gerinnung sprechen kann (u. a. Fibrinogenspiegel, Thrombinzeit, Thrombozyten im Normbereich bzw. nicht vermindert) (Straub 1979) (31), so zeigen drei weitere Patienten mit einer Verbrauchskoagulopathie, bei denen wir FPA-Einzelwerte bestimmten, eine dekompensierte Umsatzstörung (u. a. Thrombozyten- und/oder Fibrinogenabfall, Thrombinzeit verlängert, Quickwert vermindert). Auch bei diesen Patienten fanden wir pathologisch erhöhte FPA-Werte. Trotz einer Heparintherapie waren ihre FPA-Werte auf 11,8 ng/ml, 33,6 ng/ml, 45,2 ng/ml angestiegen. Bei 5 nicht-heparinisierten Patienten mit DIC stellten Cronlund et al. 1976 (11) Werte zwischen 13 und 346 ng/ml fest.

Interessant ist in diesem Zusammenhang der rapide Anstieg der FPA-Konzentration bei einem Patienten mit Verbrauchs-

koagulopathie nach der Gabe von 1250 IE Faktor VIII Konzentrat und 2800 IE Prothrombinkomplex (siehe Abb. S. 83). Von einem Ausgangswert von 141,8 ng/ml stieg die FPA-Konzentration bis auf 326,4 ng/ml nach Gabe der genannten Faktoren Binnen kurzem war dann allerdings ein Abfall des Spiegels zu beobachten. In schon früher veröffentlichten Untersuchungen (Drost 1980) (13) konnten wir nachweisen, daß Prothrombinkonzentrate verschiedener Hersteller eine zum Teil beträchtliche FPA-Freisetzung induzieren können. Zu bedenken ist weiterhin, daß diese Präparate teilweise FPA bereits enthalten können bzw. Heparin beinhalten.

8.3. Patienten mit Nierenkarzinom

I. Bei 19 Patienten, die an Nierenkarzinomen erkrankt waren, fanden wir einen durchschnittlichen FPA-Plasmaspiegel von 9,12 ng/ml. Dies kann ein Hinweis auf eine bestehende Gerinnungsaktivierung sein. Nach R. Marx (34) kann eine chronische DIC bei metastasierenden soliden Malignomen folgendermaßen bedingt sein:

1. Intravasierung lysablen Tumorzellen. Tumorzellfaktoren und am Tumor aktivierter Gerinnungsfaktoren mit potentieller RES-Blockade und fakultativer sekundärer Hyperfibrinolyse und Verbrauchskoagulopathie.
2. Gefäßeinbrüche des Tumors und Proteinolyse am Tumor.
3. Stase(n)begünstigung durch den Tumor.
4. Direkte und indirekte Minderung von Hämostasefaktoren-Produktion(en).

Je nach Situation können dann Mikro- und Makrothrombosen oder Blutungen bzw. Thrombohämorrhagien überwiegen. Die klinisch dekompensierten Koagulationen bei Tumor-DIC's machen zusammen ca. 11 % der Fälle aus (R. Marx 34). D. Neumann (39) untersuchte an 25 Patienten mit Nierenkarzinomen 84 Gerinnungsstaten. Dabei traten klinisch bei 20 % der Patienten eine Minushämostaseopathie und bei 8 % eine Hyperkoagulabilität auf. Zu bedenken ist allerdings, daß die Patienten in dem betrachteten Untersuchungszeitraum alle heparinisiert waren, d. h., daß eine Thrombose und Embolieprophylaxe durchgeführt worden ist. In diesem Patientengut fand man bei 31 % der Werte einen positiven Godaltest, der Fibrinogenspiegel war bei 27 % erhöht, pathologisch war bei 24 % der Quick-Wert, die Thrombozyten waren bei 15 % vermindert und bei 13 % vermehrt; der Protaminsulfat-Test war bei 14 %, der Clumping-Test bei 11 % und die partielle Thrombinplastinzeit bei 6 % pathologisch. In 7 % fand sich eine verlangsamte und in 12 % der Fälle eine beschleunigte Thrombinzeit.

Vergleicht man dagegen unsere Werte, die aus einem ähnlichen Krankengut stammen, so waren von insgesamt 30 FPA-Einzelwerten von insgesamt 19 Patienten mit Nierenkarzinomen 25, d. h. 83 % im pathologisch erhöhten Bereich von über 3 ng/ml Plasma. Geht man davon aus, daß das FPA nur eine sehr kurze Halbwertszeit hat, daß eine Heparintherapie binnen kurzem einen erhöhten FPA-Wert im Plasma zum Verschwinden bringen würde, wenn nicht permanent doch eine neue FPA-Entstehung vorhanden wäre, so lassen unsere Ergebnisse den Schluß zu, daß bei diesen Patienten eine permanente Hyperkoagulabilität vorlag.

Nach O'Meara (45)bedingt der sogenannte "Cancer coagulative factor", ein thromboplastischer Faktor, daß eine isolierte

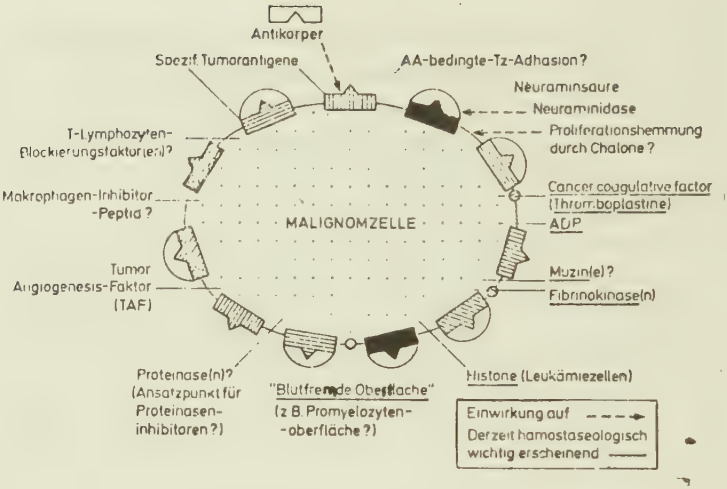


Abb. 8.3.1.1: Malignomzellfaktoren (R. Marx 34)

im freien Blutstrom treibende Tumorzelle um sich einen schützenden Fibrinmantel anlagert. In der Abbildung 8.3.1.1 von R. Marx (34) sind dieser Faktor und andere Malignomzellfaktoren, die hämostaseologisch wichtig sind oder eine Rolle spielen können, dargestellt.

Wenn man davon ausgeht, daß bei der Fibrinentstehung immer FPA frei wird, so müßte theoretisch die FPA-Freisetzung der hämatogenen Metastasierung parallel gehen bzw. bei fortschreitender Metastasierung eventuell mit ansteigen. Inwieweit FPA somit ein Parameter für einen möglichen Nachweis einer einsetzenden oder bestehenden Metastasierung sein kann, muß natürlich in kontrollierten Studien nachgeprüft werden.

II. Nach der Embolisation von inoperablen Nierenkarzinomen stellten wir bei 5 Patienten einen steilen Anstieg der FPA-Konzentration von einem durchschnittlichen Ausgangswert von 5,2 ng/ml auf durchschnittlich 40,3 ng/ml fest. Innerhalb der nächsten Tage folgte ein stetiger Abfall auf durchschnittlich 7,5 ng/ml (siehe Graphik S. 87). Der rasche Anstieg der FPA-Konzentration nach der Tumorembolisation kann, neben der thromboplastischen Aktivität des Karzinomgewebes, durch den hohen Gehalt an Gewebsthromboplastik des Embolisations-Muskelbreies mitbedingt sein. F. J. Marx et al. machen dies für eine lokale und systemische Hyperkoagulabilität verantwortlich (1977, 1975) (30, 31).

8.4. Patienten mit arteriellen und venösen Gefäßverschlüssen
(siehe 7.5.)

1. Zwei Patienten, bei denen wir FPA-Einzelwerte bestimmten, hatten ein FPA-Konzentration von 0,4 ng/ml und 3,6 ng/ml. Sie liegen also im, bzw. knapp über dem Normalbereich. In diesem Zusammenhang ist aber auf die bereits erwähnte kurze Halbwertszeit (siehe S. 105, 8.1.2) von FPA und auf die gleichfalls genannten Wirkungen der Heparinmedikamentation (siehe S. 106, 8.2.) hinzuweisen. Kockum (27) gibt 1976 bei Patienten mit akuten Thrombosen FPA-Spiegel zwischen weniger als 0,9 ng/ml und 8,4 ng/ml an. Auch Gerrits (17) (1974) nennt bei tiefen Venenthrombosen Werte bis ca 15 ng/ml. Hofmann und Straub (1977) (22) fanden bei 3 Patienten mit der gleichen Symptomatik Werte zwischen 11,4 ng/ml und 25,2 ng/ml. Nach einer Heparingabe von 5000 U i.v. waren die ursprünglichen FPA-Werte von 25,2 ng/ml und 23,2 ng/ml bei ihnen zehn Minuten später auf 1,6 ng/ml und 4,8 ng/ml gesunken. Dies deckt sich mit unseren Ergebnissen, denn beide Patienten waren heparinisiert. Yudelman (55) fand bei Patienten mit sympt. thromboembolischen Komplikationen pathologisch erhöhte Werte.

2. Wie bei anderen Gerinnungsparametern ist auch bei der Interpretation der FPA-Spiegel eine gerinnungsspezifische Therapie immer mit anzugeben. Am Beispiel der FPA-Bildungskurve eines Patienten mit Antithrombin-III-Mangel, der unter Marcumar^{R}-Therapie steht, wird dies verdeutlicht. Die FPA-Bildungskurve dieses Patienten zeigt einen sehr viel flacheren Verlauf als die FPA-Bildungskurve von Normalpersonen. (siehe Abb. S. 90).

Während der Quickwert mit 20 % auf eine Gerinnungshemmung hinweist, kann der FPA-Einzelwert - er liegt bei diesem Patienten bei 3,6 ng/ml - zu solch einer Aussage nicht herangezogen werden. Er ist in diesem Fall auch nicht als Kontrollwert für eine adäquate gerinnungshemmende Therapie geeignet.

Diese Problematik der FPA-Einzelwertbestimmung ist nur mit der Bestimmung einer FPA-Bildungskurve zu umgehen.

3. Die Fraktion "Ancrod" aus dem Giftdrüsensekret der malaiischen Grubenotter (Arwin^{R}) bewirkt eine selektive Abspaltung des Fibrinopeptides A vom Fibrinogenmolekül. Die Wirkung von Arwin in vivo ist eine kontrollierte Hypo- bzw. Afibrinogenämie und eine sekundäre Steigerung der Fibrinolyse (Vinazzer 1972) (53). Die Blut- und Plasmaviskosität kann dadurch um ca 20 % vermindert werden, auch die Erythrozytenaggregation ist erniedrigt. Dies bewirkt eine Verbesserung der Mikrozirkulation. Als Indikation für eine Arwintherapie gelten inoperable oder bereits operierte Patienten mit chronischen arteriellen Verschlußkrankheiten im weit fortgeschrittenen Stadium II, im Stadium III und beginnendem Stadium IV (Marshall 1979) (31). Bei einem Patienten, der über 15 Tage mit Arwin behandelt wurde, bestimmten wir die FPA-Konzentration im Vergleich zum Fibrinogenspiegel. Während letztere von 430 mg/100 ml auf 210 mg/100 ml abfällt, ist ein gegensinniger Verlauf der FPA-Konzentration bis auf Werte größer 400 ng/ml zu beobachten (siehe Abb. S. 91). Bell et al. (3) untersuchten an 6 gesunden Probanden die Wirkung von Ancrod auf den Prothrombin und Fibrinogen Metabolismus sowie auf die FPA-Freisetzung. Sie stellten fest, daß eine initiale Defibrinogenisierung innerhalb der ersten 3 Stunden während der Ancrod-Infusion eintrat. Während sich die

Konzentration und der Metabolismus von Prothrombin unter der Ancrod-Behandlung nicht änderte, stiegen die FPA-Konzentrationen auf Werte von mehr als 4000 ng/ml, während der initialen Defibrinogenisierung an. Später sanken sie dann auf Werte von über 80 ng/ml.

Unsere Ergebnisse bei einem Patienten mit hochgradigen Gefäßverschlüssen und die Werte von gesunden Probanden bei Bell unter einer Behandlung mit Ancrod, sind ein Hinweis für die Spezifität der Ancrod-Wirkung am Fibrinogenmolekül.

Der verschieden hohen FPA-Werte in unserer Bestimmungsreihe lassen sich eventuell mit den nicht immer konstanten Abnahmezeiten nach der Gabe von Ancrod und mit der kurzen Halbwertszeit des FPA's erklären.

Der FPA-Radioimmunoassay kann in diesem Zusammenhang gemeinsam mit einer kontinuierlichen Bestimmung des Fibrinogenspiegels während einer Ancrod-Therapie eine interessante Kontrollmöglichkeit für solch eine Behandlung darstellen.

4. FPA während Streptokinasetherapie

Wie schon auf S. 9 genannt, kann mit dem beschriebenen Radioimmunoassay nur über Thrombin und thrombinähnliche Enzyme zusammen eine Aussage gemacht werden (47). Das Fibrinopeptid A kann nicht nur durch Thrombin vom Fibrinogenmolekül abgetrennt werden, sondern auch, neben niedermolekularen Fibrinopeptid-A-ähnlichen Molekülen, durch relativ hohe Trypsin oder Plasminaktivitäten (5, 9, 36). Budzynski (9) meint, daß der Test primär eine thrombininduzierte FPA-Freisetzung vom Fibrinogenmolekül durch Streptokinase oder Urokinase zu einer Kreuzreaktion im

Assay führt. Diesen Sachverhalt untersuchten wir an einem Patienten, der trotz einer Streptokinase therapie eine Progredienz der Thrombusentwicklung zeigte (S. 94). Drei Stunden nach insgesamt 500 000 Einheiten Streptokinase lag die FPA-Konzentration bei 4,6 ng/ml. Ein Wert, der knapp über dem Normbereich liegt. 90 Minuten nach insgesamt ca 2,25 Millionen Einheiten war der FPA-Spiegel dagegen auf 260 ng/ml angestiegen.

Ob dieser hohe Wert alleine durch die Plasmin-Wirkung, der Aktivierung der Fibrinolyse, bedingt ist, oder ob die hohen FPA-Werte durch eine weitere Gerinnungsaktivierung - die progrediente Thrombusentwicklung kann dafür hinweisend sein - bedingt sind, kann durch diesen Test nicht unterschieden werden.

Kockum (27) beschreibt einen Fall, bei dem ein Patient nur 75 000 IU/h in den letzten 24 h einer 4tägigen Streptokinasetherapie erhalten hatte und bei dem die FPA-Werte zwischen 1,7 ng/ml und 18,0 ng/ml lagen.

8.5. Patienten mit Hämophilie (siehe 7.7)

1. Fibrinopeptid-A-Bildungskurven bei Patienten mit Hämophilie A, Faktor VIII = 1 %
   Nach dem unter 4.2. genannten Verfahren bestimmten wir bei 7 Patienten mit Hämophilie A, Faktor = 1 %, die FPA-Bildungskurven (siehe auch 8.1.2.). Der sehr viel flachere Verlauf dieser Bildungskurven im Vergleich zu dem von Normalpersonen ist auf Abb. 7.7.1.1.,S.97 dargestellt. Während die durch-

schnittliche FPA-Konzentration nach 30 Minuten Inkubationszeit bei Hämophilie-A-Patienten mit Faktor VIII = 1 % bei 16,46 ng/ml liegt, zeigt ein Hämophiler mit einem Faktor VIII = 9 % (siehe S.96, 7.1.1., Patient Nr. 10) einen Anstieg bis auf 128 ng/ml.

2. Wie sich der Verlauf der Fibrinopeptid-A-Bildungskurve unter einer Substitutionstherapie mit Faktor IX bei Patienten mit Hämophilie B ändern kann, zeigt die Abb. auf S. 98.

Gerrits et al. (17) veröffentlichten 1974 FPA-Einzelwerte von 9 Hämophilen, die sich nicht signifikant von der FPA-Konzentration von Normalpersonen unterschieden. Auch unsere Einzelwerte stimmten mit denen von "Normalpersonen" überein.

An diesem Beispiel zeigt sich wieder die Überlegenheit der FPA-Bildungskurve im Vergleich zum FPA-Einzelwert bei der Interpretation von Hypokoagulabilitäten.

3. Bei etwa 5 bis 10 Prozent der Hämophilie-A-Patienten entwickeln sich in Verbindung mit einer erforderlichen Substitutionsbehandlung bei Blutungskomplikationen Immunhemmkörper vom IgG-Typ (Rasche et al. 1977) (47). Wir untersuchten bei Hemmkörperhämophilen die FPA-Bildungskurven und die Reaktion auf eine Therapie mit FEIBA Factor Eight Inhibitor Bypassing Activity).

Nach der Substitution mit Fraktion FEIBA Human (Immuno) waren die vorher extrem flach verlaufenden Kurven dem Normalbereich angeglichen bzw. in den übergerinnbaren Bereich gerückt (siehe dazu Absolutwerte und Graphiken auf S. 100 und 101).

Gerade in der Kontrolle der FEIBA-Therapie kann die Fibrinopeptid-A-Bildungskurve angewandt werden, weil die bisherigen Kontrollmöglichkeiten wie PTT und Thromelastogramm sowie Vollblutgerinnungszeit u. E. nicht voll ausreichend sind (Schramm et al. 1980) (49).

E)

9. Zusammenfassung

Nossel et al. (40) entwickelten 1971 einen Radioimmunoassay für Fibrinopepted A, der arbeitstechnisch und zeitlich sehr aufwendig war. 1977 wurde der Test von W. Schramm und M. Schmid modifiziert. Statt der Abtrennung von gebundenen und ungebundenen ^{125}J-FPA durch Adsorption an Aktivkohle wurde die Doppelantikörpermethode eingeführt. Weil die Abtrennung der Fibrinogenspaltprodukte durch die Dialysemethode sehr zeitaufwendig war und die Gesamtdauer des Testens so 3 Tage dauerte, wurde sie von uns durch die Geladsorptionsmethode (W. Drost 13) ersetzt. Die Gesamtdauer des Testes konnte bei nicht zu vielen Plasmen im Test auf 8,5 Stunden verkürzt werden (W. Drost 13).

In dieser Arbeit werden folgende klinische Ergebnisse (siehe 7.) vorgestellt und der Versuch einer Interpretation gemacht.

- bei 96 "Normalpersonen" werden die FPA-Einzelwerte bestimmt. $\bar{x}$ = 1,3 ng/ml (Drost) (13)
- bei 15 "Normalpersonen" werden FPA-Bildungskurven bestimmt
- bei 18 Patienten im hyperdynamen septischen Schock bestimmten wir den Verlauf der FPA-Konzentration über 4 Tage
- bei 19 Patienten mit Nierenkarzinomen untersuchten wir die FPA-Konzentrationen
- bei 5 Patienten verfolgten wir den Verlauf der FPA-Konzentration nach Embolisation inoperabler Nierenkarzinome

- bei 3 Patienten lagen arterielle und venöse Gefäßverschlüsse vor. Einzelwerte und Verlauf sowie eine FPA-Bildungskurve werden vorgestellt.
- bei 1 Patienten verglichen wir den Verlauf der Fibrinogenkonzentration mit dem Verlauf der FPA-Konzentration während einer Therapie mit Arwin
- bei 1 Patienten wurde der Einfluß einer Therapie mit Streptokinase auf die zu messende FPA-Konzentration untersucht
- bei 3 Patienten mit Verbrauchskoagulopathien betrachteten wir die Aussagekraft der FPA-Werte
- bei 7 Patienten mit Hämophilie A, Faktor VIII = 1 %, wurden FPA-Bildungskurven erstellt
- bei 2 Patienten mit Hämophilie B werden FPA-Bildungskurven dargestellt und bei einem Patienten die Auswirkung einer Substitutionsbehandlung belegt
- bei 3 Patienten, die eine Hemmkörperhämophilie haben, werden FPA-Bildungskurven vor und nach Substitution mit Fraction FEIBA Human dargestellt
- 173 Patienten wurden insgesamt in dieser Studie auf ihre FPA-Plasmakonzentration entweder als Einzelwert oder als FPA-Bildungskurve untersucht.

Es hat sich herausgestellt, daß der FPA-Einzelwert in vivo sehr kritisch zu betrachten ist. Gründe dafür sind die geringe Halbwertszeit des FPA in vasis in vivo (von 3 bis 5 Minuten), der sehr schnelle Abfall der FPA-Konzentration unter einer Therapie mit Heparin und die geringe Aussagekraft des FPA-Testes bei vorliegenden Hypokoagulabilitäten. Die Bestimmung der FPA-Bildungskurve ex vivo hat sich als überlegener Parameter erwiesen.

Mit ihr können genau quantifizierbare Aussagen über die Wirkung des Thrombins am Fibrinogenmolekül (Abspaltung von

FPA), somit Schlüsse auf das herrschende Gerinnungspotential gemacht werden.

Besonders bei der Substitutionstherapie der Hemmkörperhämophilie mit Fraction FEIBA Human, eventuell auch bei Substitutionsbehandlungen von Hämophilie A und B, ergeben sich neue attraktive Kontrollmaßnahmen.

In diesem Zusammenhang ist eine weitere Verkürzung des Testes anzustreben. Zur Zeit werden im hämostasiologischen Labor von R. Marx von W. Schramm solche Untersuchungen vorgenommen. Die Bentonit-Fällung kann die ersten beiden zeit- und arbeitsaufwendigen Trennschritte (Äthanolfällung und die Geladsorption) auf eine halbe Stunde verkürzen. Mit der Polyäthylenglykol-Fällung an Stelle des 2. Antikörpers sind weitere Zeit- und Kostenersparnisse möglich. In Zukunft wird der Radioimmunoassay für die Bestimmung von Fibrinopeptid A in 5 bis 6 h durchführbar sein (W. Schramm et al. 1980) (49). Weitere Untersuchungen, speziell bei den genannten Anwendungsmöglichkeiten der Fibrinopeptid-A-Bildungskurve und auch bei der Anwendung der Fibrinopeptid-A-Bildungskurve bei disseminierten intravaskulären Gerinnungsprozessen (DJC) sind dann zu fordern.

10. Literatur

1. Adam, W., Pfannenstiel, P.: Radioimmunoassays, ihr Wert in der klinischen Anwendung. Med. Welt Bd. 27, Heft 37 (1976)

2. Begemann, H.: Hrsg., Klinische Hämatologie, Verbrauchskoagulopathien und Hyperfibrinolysen, 2. Auf. G. Thieme, Stuttgart (1975)

3. Bell, W. R., Shapiro, S. S., Martinez, J., Nossel, H.: The Effects of Ancroad, the Coagulation Enzyme from the Venom of Malayam Pit Viper (A. Rhodastoma) on Prothrombin and Fibrinogen Metabolism and Fibrinopeptide A Release in Man. J Lab Clin Med, 91 (4) 592 - 604/ Apr. 1978

4. Bettelheim, F. R.: Biochim. Biophys. Acta 19/121 (1956)

5. Bilezikian, S. B., Nossel, H. L., Butler V. P. Jr., Canfield, R. G.: Radioimmunoassay of Human Fibrinopeptide B and Kinetics of Fibrinopeptide Cleavage by Different Enzymes. J. of Clin. Invest. 56, 438 (1975)

6. Blombäck, B., Vestermark, A.: Arkiv. Kemi 12, 299 (1958)

7. Blombäck, B.: J. Biol. Chem. 247, 1496 (1972)

8. Blombäck, B., Blombäck, M., Edman, P., Hessel, B.: Human Fibrinopeptides, Isolation, Characterication and Structure. Biochim. Biophys. Acta 115, 371 (1966)

9. Budzynski, A. Z., Marder, V. J., Sherry, S.: Reaction of Plasmic Degradation Products of Fibrinopeptide A. Blood, Vol. 45, No. 6 (1975)

10. Colman, R. W., Robboy, S. J., Minna, J. D.: Disseminated Intravascular Coagulation: A Reappraisal Ann. Rev. Med. 1979. 30: 359 - 74

11. Cronlund, M., Hardin, J., Burton, J., Lee, L., Haber, E., Bloch, K. J.: Fibrinopeptide A in Plasma of Normal Subjects and Patients with Disseminated Intravascular Coagulation and Systemic Lupus Erythematosus. The J. of Clin. Invest. Vol. 58 July 1976 142 - 151

12. Dayhoff, M.: Atlas of Protein Sequence and Structure. Vol. 5 Silver Spring, Nat. Res. Biochem. Found. (1977)

13. Drost, Winni: Fibrinopeptid A - Radioimmunoassay nach der Geladsorptionsmethode. Methodik und erste Ergebnisse. Inaugural-Dissertation, München (1980)

14. Erhardt, F.: Einführung in die Verfahren der Radioimmunoassays.

15. Erhardt, F., Marschner, J., Pickardt, R.C., Scriba, P.: Verbesserung und Qualitätskontrolle der radioimmunologischen Thyreotropin Bestimmung. Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 11, 381 (1975)

16. Gaspar, H.: Maligne Geschwülste und Thrombosen. Med. Welt Bd. 27, Heft 37 (1976)

17. Gerrits, W. B. J., Odilia, Th, N., Flier, Van der Meer, J.: Fibrinopeptide A Immunreactivity in Human Plasma. Throm. Res. 5, 197 (1974)

18. Godal, H. C., Abildgaard, U.: Gelation of Solubile Fibrin in Plasma by Ethanol. Scand. J. Haemat. 3, 342 (1966)

19. Graeff: Identification of Fibrinogen Derivates in Plasma Samples. Throm. Diathes. Haemorrh. 27, 610 (1972)

20. Goodfriend, T.: Radioimmunoassay of Bradykinin, Chemical Modification to Enable Use of Radioactive Iodine. J. Lab. Clin. Med. 73, 501 (1969)

21. Harenberg, J., Hepp, G., Schmidt-Gayk, H.: Fibrinopeptide A in Human Plasma - Evaluation of a Nex Radioimmunoassay Technique on Microliter-Plates. Thromb. Res. 15, 513 - 522 (1979)

22. Hofmann, V., Straub, P.: A Radioimmunoassay Technique For the Rapid Measurement of Human Fibrinopeptide A. Thromb. Res. 11, 171 - 181 (1977)

23. Hunter, W. M., Greenwood, F. C.: Preparation of Iodine-131 Labelled Human Growth Hormone of High Specific Activity. Nature 194, 495 (1962)

24. IMCO: Anleitung zum Reagentiensatz Fibrinopeptid A Radioimmunoassay - kit.

25. IMMUNO
Fraktion FEIBA Human 6. 78 / 3000 / 2

26. Johnsson, H., Orinius, E., Paul, C.: Fibrinopeptide A in Patients with Acute Myocardial Infarction. Thromb. Res. 16, 255 - 260 (1979)

27. Kockum, C.: Radioimmunoassay of Fibrinopeptide A - Clinical Applications. Thromb. Res. Vol. 8, 225 - 236 (1976)

28. Lasch, H. G., Huth, K., Heene, D. L., Müller-Berghaus, G., Hörder, M.-H., Janzarik, H., Mittermayer, C., Sandritter, W.: Die Klinik der Verbrauchskoagulopathie. DMW, Nr. 17, 23. April 1971

29. Lorand, L.: Fibrinogen: Structural, Metabolic and Pathophys. Aspects. Schattauer Verlag, Stuttgart 1970, S. 75

30. Marschner, I.: Radioimmunoassay and Related Procedures in Medicine. Vol. 1 Int. Atomic Energy Agency, Vienna (1974)

31. Marshall, M.: Rationale internistische Therapie arterieller Durchblutungsstörungen. Euromed Nr. 6 (1979)

32. Marx, F. J.: Intravasale Gerinnung beim Nierenkarzinom. Verh.Ber. Dtsch. Ges. Urol. 26, 223 (1975)

33. Marx, F. J., Schramm, W., Hafter, R., Eisenberger, F.: Blutgerinnungsveränderungen nach transfemoraler Embolisation inoperabler Nierentumoren. Helv. chir. Acta 44, 385 - 389 (1977)

34. Marx, R.: Wichtige klinisch-hämostaseologische Phänomene bei Malignomen. Onkohämostaseologie, hrsg. von H. Gaspar, S. 3 - 20. Schattauer Verlag, Stuttgart 1976

35. Marx, R.: Über thrombophile hämorrhagische Diathesen bei Krebs. In: Fibrinstabilisierender Faktor, Struktur des Blutgerinnsels, Krebs und Blutgerinnung, hrsg. von E. Fischer, K. Lechner, 101 - 117. Schattauer Verlag, Stuttgart (1968)

36. Mills, D.: A Molecular Modell For Proteolysis of Human Fibrinogen by Plasmin. Biochim. Biophys. Acta 263, 619 (1972)

37. Mombelli, G., Homann, V., Straub, P. W.: Zur biologischen Bedeutung einer Erhöhung des Fibrinopeptids A im Blut. Schweiz. med. Wschr. 107, Nr. 48 (1977)

38. Müller-Berghaus, G.: Hyperkoagulabilität - Verbrauchskoagulopathie: diagnostische Möglichkeiten. Mannheim Boehringer: Aktuelle Diagnostik. (1977)

39. Neumann, D.: Zur Kenntnis der Hämostaseopethien bei Prostata-, Nieren-, Lungen- und Magen-Karzinom. Inaugural-Dissertation, München 1978

40. Nossel, H. L., Younger, L. R., Wilner, G. D., Procupez, T., Canfield, R. E., Butler, V. P. Jr.: Radioimmunoassay of Human Fibrinopeptide A. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, Vol. 68, No. 10, 2350, Oct. 1971.

41. Nossel, H. L., Yudelman, I., Canfield, R. E.. Butler, V. P. Jr., Spanondis, K., Wilner, G. D., Qureshi, G. D.: Measurement of Fibrinopeptide A in Human Blood. The J. of Clin. Invest. Vol. 54, 43 - 53 (1974)

42. Nossel, H. L., Ti, M., Kaplan, K. L., Spanondis, T., Soland, T., Butler, V. P. Jr.: The Generation of Fibrinopeptide A in Clinical Blood Samples. Evidence for Thrombin Activity. The J. of Clin. Invest. Vol. 58, Nov. 1976, 1136 - 1144

43. Nossel, H. L.: Radioimmunoassays of Fibrinopeptides in Relation to Intravascular Coagulation and Thrombosis. The New Engl. J. of Med. Aug. 19 (1976)

44. Nossel, H. L., Butler, V. P., Wilner, G. D., Canfield, R. E., Harfenist, E. J.: Specifity of Antisera to Human Fibrinopeptide A Used in Fibrinopeptide A Assays. Thromb. Hämost. 35, 101 (1976)

45. O'Meara, R.: Coagulative Properties of Cancer. Irish J. med. Sci. 6, 474 (1958)

46. Pannitz: Methodische Grundlagen und praktische Durchführung von Radioimmunoassays. Med. Welt. Bd. 27 Heft 37

47. Rasche, H., Bindewald, H., Köhle, W., Scheck, R., Heinrich, R., Seibert, K.: Notfallbehandlung von Blutungskomplikationen bei Hemmkörper-Hämophilie mit aktivierten Prothrombinkomplex-Konzentraten. Dtsch. med. Wschr. 102 (1977) 319 - 323

48. Schramm, W., Schmid, M., Ehrhardt, F. W.: Radioimmunoassay von Fibrinopeptid A: Doppel-Antikörper-Methode. Fortschr. Med. 95. Jg. (1977), Nr. 19

49. Schramm, W., Drost, W., Schmidt, M., Borlinghaus, P., Marx, R.: Fibrinopeptid-A-Bestimmung. Methodik und klinische Ergebnisse. Aus: Fibrinogen, Fibrin und Fibrinkleber. Schattauer Verlag, Stuttgart 1980

50. Stenbjerg, St., Jorgensen, J.: Disseminated Intravascular Coagulation and Infusion of Factor-VIII-Inhibitor Bypassing Activity. The Lancet, Feb. 12 (1977)

51. Straub, P.: Intravasale Gerinnung: Symptom oder Krankheit? Schweiz. med. Wschr. 109, Nr. 37 (1979)

52. Thomas, T., Williams, H., Williams, Y., Hunt, J.: FEIBA in Haemophiliacs with Factor VIII Inhibitor. Brit. Med. J., 1. Jan. (1977)

53. Vinazzer. H.: Gerinnungsstörungen in der Praxis. Labordiagnostik, Klinik, Therapie. Gustav Fischer Verlag Stuttgart 1972

54. Witte, J.: Persönliche Mitteilungen. Hyperdynamer septischer Schock.

55. Yudelmann, I. M., Nossel, H. L., Kaplan, K. L., Hirsh, J.: Plasma Fibrinopeptide A Levels in Symptomatic Venous Thromboembolism. Blood, Vol. 51, No. 6 (1978)

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. med. R. Marx für die freundliche Überlassung des Themas sowie Herrn Dr. med. W. Schramm für seine Anleitung und Unterstützung bei der Arbeit.

Danken möchte ich auch meinem Freund und Mitdoktoranden Dr. med. W. Drost für das gemeinsame Arbeiten und all unseren Freunden, die sich wiederholt haben Blut abnehmen lassen.

LEBENSLAUF

Am 9.7.1952 wurde ich, Peter Borlinghaus, als Sohn des Oberstadtbaudirektors Horst Borlinghaus und seiner Ehefrau Gisela Borlinghaus, geb. Ploss, in Hof an der Saale/Oberfranken geboren. In den Jahren 1953 und 1959 wurden meine Brüder Thomas und Michael geboren. 1959 erfolgte meine Einschulung in die Volksschule (Schillerschule, Hof)

Weitere Daten:

1963 Übertritt in das Schillergymnasium in Hof

1972 Abitur

1972 bis 1974 im Sanitätswesen der Bundeswehr tätig

1974 im Wintersemester Immatrikulation an der Ludwig-Maximilians-Universität München für den Fachbereich Physik

1975 im Sommersemester Immatrikulation für das Fach Humanmedizin

1976 Physikum

1977 1. Teil des Staatsexamens. Beginn der Doktorarbeit bei Prof. Dr. med. R. Marx

1978 von August bis Oktober Famulatur bei Prof. L. W. Brady am Hahnemann Medical College and Hospital of Philadelphia, Pennsylvania USA

1979 September und Oktober Famulatur bei Prof. H. E. Averette an der University of Miami, Florida, USA

1980 2. Teil des Staatsexamens, Beginn des Praktischen Jahres

1981 13. Mai Bee ndigung des Medizinstudiums mit dem Zeugnis der Ärztlichen Prüfung

18. Mai 1981 Approbation als Arzt